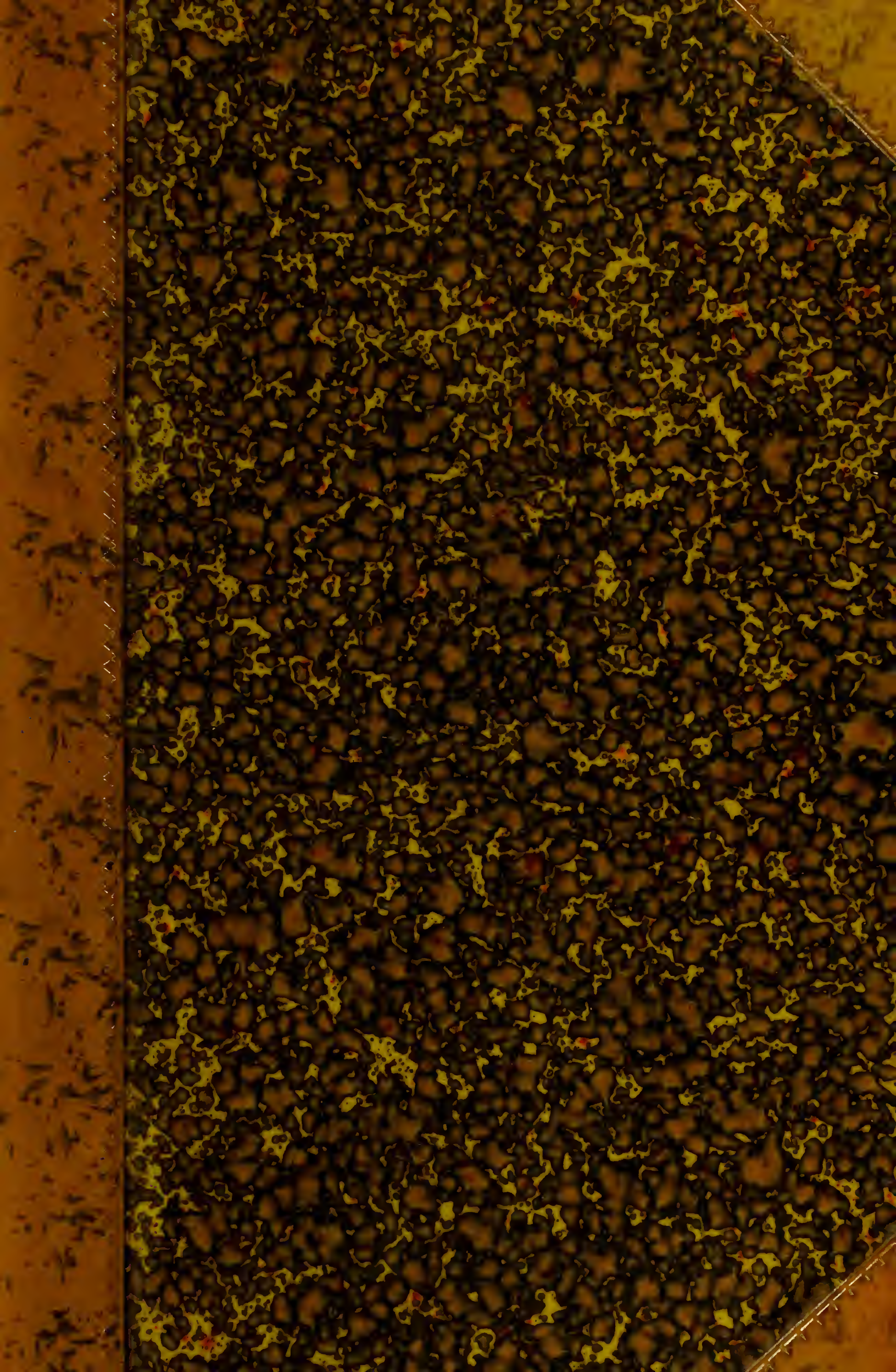


GUIDE TECHNIQUE

DU

LABORATOIRE D'HISTOLOGIE

NORMALE

ET

ÉLÉMENTS D'ANATOMIE ET DE PHYSIOLOGIE GÉNÉRALES

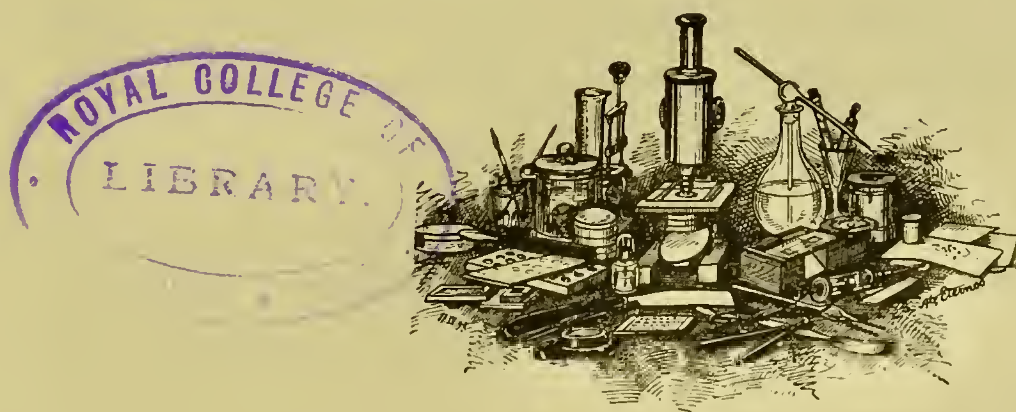
A L'USAGE DES ÉTUDIANTS EN MÉDECINE ET EN SCIENCES NATURELLES

PAR

Le Dr A.-C.-F. ETERNOD
Professeur à l'Université de Genève.

DEUXIÈME ÉDITION
Revue et augmentée d'un chapitre sur les principales méthodes embryologiques.

ACCOMPAGNÉ DE 141 FIGURES EN PARTIE ORIGINALES



GENÈVE-BALE-LYON
Georg & Co, Libraires - Éditeurs
1898

GENÈVE

IMPRIMERIE W. KÜNDIG & FILS

A MES ÉLÈVES

PASSÉS — PRÉSENTS — ET FUTURS

A vous tous, je dédie affectueusement la seconde édition de ce livre, auquel, — dès le début, lorsqu'il était encore à l'état de simples feuilles volantes hectographiées, — vous avez collaboré chaque jour, et aux éditions subséquentes duquel nous pourrons collaborer longtemps encore, j'espère, si Dieu me prête vie.

S'il y a quelque chose de bon dans ce modeste ouvrage, reconnaissez votre œuvre ; car c'est, avant tout, à vous et à votre influence fructifiante — laquelle, pour avoir été inconsciente de votre part, n'en a pas moins été réelle et continue — qu'on le devra.

Le zèle assidu que vous avez toujours mis à fréquenter les Laboratoires d'Histologie normale et d'Embryologie pouvait, seul, conférer à votre professeur la force nécessaire et une expérience, vieille déjà de tantôt seize ans — justement l'âge d'or de l'adolescence.

Veuillez accepter ce livre avec autant de plaisir que j'ai de joie à vous le dédier.

L'AUTEUR.

Les Grands-Acacias (près Genève), 1er janvier 1897.

TABLE DES MATIÈRES

TROISIÈME PARTIE

MÉTHODES TECHNIQUES 51

QUATRIÈME PARTIE

Pages.

LA CELLULE EN GÉNÉRAL 109

CINQUIÈME PARTIE

SIXIÈME PARTIE

SEPTIÈME PARTIE

APPENDICE :

TABLE

DES

FIGURES CONTENUES DANS LE PRÉSENT OUVRAGE

PRÉFACE DE LA DEUXIÈME ÉDITION

Pour accéder à la demande de notre honorable éditeur et afin de donner satisfaction aux sollicitations pressantes et réitérées qui, depuis des années et de différents côtés, nous parviennent, — notamment de la part de nos élèves, — nous nous décidons à rééditer notre « Guide technique d'histologie », dont la première édition, complètement épuisée depuis passé six ans, a vu le jour en 1886.

Nous avons soumis à une revision étendue et à une mise au point soignée les différents chapitres de ce travail; quelques-uns même, comme celui concernant le système nerveux, ont été totalement remaniés.

Les procédés techniques les plus usuels, tels que la deshydratation, l'inclusion à la paraffine, etc., ont été résumés sous forme de tableaux synoptiques qu'il est facile à chaque instant de consulter d'un coup d'œil.

Plusieurs méthodes techniques d'origine récente, constituant des acquisitions précieuses et un progrès réel dans l'étude pratique des éléments histologiques, — comme la fixation et la conservation au formol, l'imprégnation au chromate d'argent, etc., — ont fait l'objet d'une mention spéciale.

En outre, un chapitre nouveau sur les « principales méthodes appliquées en embryologie, » qui faisait complètement défaut dans la précédente édition et que l'on ne retrouve dans aucun ouvrage similaire, a été ajouté.

Grâce à la libéralité de MM. Georg et Cie, nos éditeurs, le nombre des gravures et des clichés originaux a pu être notablement augmenté, au grand bénéfice de la clarté des explications

et de la richesse du fonds. Une notable partie de ces clichés sont originaux et ont été exécutés sur nos propres dessins.

Nous tenons à faire remarquer tout particulièrement, que, malgré cette refonte pour ainsi dire totale, notre ouvrage reste néanmoins le même dans ses grandes lignes, soit pour le fonds, soit pour l'esprit général; qu'il continue à être, avant tout, un « Guide technique » ; et que par conséquent, les indications d'ordre purement théorique sont plutôt mises au second plan, malgré qu'elles aient été aussi soumises également à une revision soigneuse.

Un instant, pour satisfaire à un désir qui nous avait été souvent exprimé, nous avions tenté de développer aussi la théorie, et de faire, de la sorte, un ouvrage plus ou moins complet, à la fois théorique et pratique. Après plusieurs essais étendus de rédaction dans ce sens, nous sommes arrivés à la conviction inébranlable qu'il fallait résister à cette tentation, quelque séduisante qu'elle parût au premier abord; et nous avons, non sans regret, abandonné notre projet, convaincu qu'une semblable tâche est très difficile à mener à bien, attendu qu'on s'expose à ne produire qu'un travail hybride, mal équilibré et incomplet, surtout que nous sommes en présence de matières encore peu consistantes et faisant actuellement l'objet de nombreuses controverses et de discussions, souvent ardentes.

Nous avons donc pris la résolution de tenir ces matières tout à fait distinctes et dans des textes séparés; mais cependant combinés, de façon à constituer néanmoins un tout.

Notre nouvelle édition du « Guide technique » paraîtra dans un format notablement agrandi; et cela, précisément en vue des unifications de texte et de format, nécessitées par l'arrangement que nous avons adopté.

Aussitôt l'impression du « Guide technique » terminée, nous nous mettrons en devoir de publier notre « *Traité d'histologie, d'anatomie et de physiologie générales et transcendantes* (Eléments de biologie générale) », que nous préparons depuis de longues années et dont le manuscrit est en grande partie prêt à être livré à l'éditeur.

De la sorte, tout en étant séparés, les deux textes — les deux ouvrages aimerions-nous dire, — formeront un tout complet, un ensemble balancé, que l'élève pourra se procurer, tout ou partie, à son gré et consulter suivant ses besoins particuliers.

Il eût été, à certains égards, commode de joindre au présent ouvrage des indications bibliographiques circonstanciées. Mais comme celles-ci eussent été forcément en très grand nombre, elles auraient eu l'inconvénient d'augmenter beaucoup et sans grand profit le présent volume. Il en sera tout autrement dans l'ouvrage que nous publierons pour faire suite à celui-ci, lequel possédera un index bibliographique étendu, avec nombreux renvois dans le texte.

Pour notre « Guide technique, » nous nous contenterons de rappeler ce que disait, avec une légère mélancolie, tempérée de beaucoup de malice, le grand Cervantès, dans la préface de son célèbre don Quichotte :

« Mon livre manquera de tout cela, puisque je n'ai rien à placer « en marge, ni rien à mettre à la fin ; il m'est encore plus diffi- « cile de citer sur quels auteurs je m'appuie, et de placer au « commencement de mon livre, comme font tous les écrivains, « une liste débutant par Aristote et concluant par Xénophon, « Zeuxis ou Zoïle, sans m'inquiéter si l'un fut un grand peintre et « l'autre une mauvaise langue..... Je suis trop paresseux pour « aller chercher des auteurs qui disent ce que je sais fort bien « dire sans eux. »

En terminant cette préface, nous nous faisons un devoir tout particulier de remercier vivement notre éditeur de la libéralité avec laquelle il nous a permis d'augmenter le nombre des figures originales.

Les Grands-Acacias (près Genève), 21 janvier 1897.

A.-C.-F. ETERNOD.

PREMIÈRE PARTIE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'ouvrage dont nous donnons aujourd'hui la seconde édition n'est pas un manuel complet d'histologie.

Ainsi que son titre l'indique, c'est essentiellement un « Guide technique de laboratoire. » Sa place n'est donc pas dans une bibliothèque, mais sur la table de recherches et d'expériences. Son rôle quoique plus modeste, n'en a pas moins son importance; attendu que l'enseignement scientifique, de purement théorique qu'il était naguère, tend à devenir toujours plus pratique.

Conçu d'abord sous forme de feuilles volantes autographiées, que nous donnions gratuitement, chaque matin, aux étudiants travaillant dans notre laboratoire, notre opuscule s'est développé progressivement et d'année en année. Nous profitions de l'expérience graduellement acquise, pour y introduire de nouveaux perfectionnements et pour adopter les méthodes qui nous semblaient conduire au but par la voie la plus sûre et la plus courte. Ainsi s'est accumulé le produit d'un travail en quelque sorte collectif et inconscient d'une quinzaine d'années; résultat de la collaboration prolongée et journalière des élèves et de leur professeur. Notre Guide en a, croyons-nous, par cela même, acquis une sûreté de méthodes toute spéciale.

Nous avons basé toutes nos descriptions histologiques sur l'examen direct de nos propres préparations, de manière à les rendre aussi exactes et aussi vraies que possible.

Pour ce qui concerne le fond des méthodes appliquées, il va sans dire que nous n'avons pas la prétention de les avoir toutes inventées. Quelques-unes sont originales; pour les autres, nous nous sommes borné à choisir parmi les plus usuelles et les plus commodes, puisant largement aux sources qui étaient à notre disposition : articles de journaux et de revues scientifiques, manuels sur la matière, indications orales de collègues, etc.

Les études histologiques, et, partant les observations au microscope, ont acquis récemment un essor et une importance considérables, tout à fait inconnus de nos prédécesseurs, et cela, non seulement au point de vue de la science pure, mais aussi à celui de l'application pratique et de tous les instants.

Des notions exactes d'histologie sont devenues absolument indispensables au médecin, comme au naturaliste.

Grâce à ces exigences nouvelles, tout naturaliste et tout médecin doivent être doublés d'un bon histologiste, et, par conséquent, d'un bon micrographe. D'ailleurs, le temps est définitivement passé où l'on se bornait, avant un examen, à lire fièvreusement un traité quelconque sur la matière; maintenant, c'est le microscope en main, et par un travail expérimental long et assidu, que ces données doivent être acquises, sous peine de s'exposer à passer, à juste titre, pour un ignorant.

Comme conséquence inévitable de toutes ces exigences nouvelles, il en est résulté beaucoup de diversité et de complication dans les procédés d'investigation histologique. Malheureusement, cette grande perfection technique a aussi son revers ; elle constitue un écueil dangereux pour le débutant qui est tenté de croire volontiers que l'on ne peut rien faire sans de grandes complications, et qui risque ainsi facilement de confondre le *moyen* avec le *but*, en s'imaginant que, une fois le procédé réalisé, tout est atteint. Ce raisonnement, on le sent bien, est délétère au premier chef. De là, la nécessité, pour tout jeune expérimentateur, de s'astreindre de bonne heure à travailler avec la plus grande simplicité pos-

sible, et de ne pas se laisser absorber exclusivement par des détails techniques, après tout d'ordre secondaire.

Il faut donc, avant tout, s'attacher à devenir un *bon observateur*. Alors seulement et quand un besoin urgent s'en fera sentir, on sera en état d'user, avec tout le fruit désirable, de procédés plus complexes!...

Il découle donc naturellement de ce que nous venons de dire, que notre idée fondamentale a été, dans l'initiation du néophyte, *de procéder du simple au composé.*

Il faut noter, du reste, qu'il y a une grande différence dans la manière de s'y prendre, lorsqu'il s'agit de faire une découverte nouvelle, ou bien simplement de contrôler un fait déjà connu. C'est évidemment surtout de ce dernier mode d'observation qu'il est question pour nous ici, puisque nous nous adressons à des commençants ayant, avant tout, à faire leur éducation des sens. Tous ceux qui se sont occupés sérieusement de science savent combien cette dernière est longue et difficile!

Ars longa, vita brevis.

Uniquement basées sur l'expérience de tous les jours, ces quelques pages, écrites sans prétention, s'adressent aussi bien à l'étudiant en médecine, qu'aux personnes qui cultivent plus particulièrement les sciences naturelles. Elles ont un triple but : former à l'observation scientifique; donner, chemin faisant, des notions précises sur l'histologie générale, encore si défectueusement exposée dans la plupart de nos manuels ordinaires; enfin, éviter au commençant de recourir, au moindre embarras, aux explications d'un spécialiste.

En outre, il va sans dire, ces pages doivent être considérées comme une préparation directe aux études, plus difficiles, de l'histologie spéciale de l'homme et des animaux, et comme une introduction à la microscopie pathologique et clinique.

Disons, pour terminer, que nous supposons toujours que l'élève a lui-même sous les yeux les objets dont il est parlé. Partant de

cette idée, nous nous sommes abstenu méthodiquement de mettre sous les yeux des élèves des dessins histologiques proprement dits, nous bornant strictement à donner un certain nombre de vignettes indispensables, représentant des appareils et des instruments, ou destinées à faire comprendre tel tour de main, difficile à expliquer.

Nous considérons les gravures d'histologie comme dangereuses et même comme nuisibles pour les débutants. Leur image, toujours plus ou moins schématisée, se substitue trop facilement à celle de l'objet qu'elles sont destinées à représenter ; ce sont des portraits infidèles qui demandent à être interprétés, et qui ne sont réellement profitables qu'à celui qui les a exécutés lui-même.

Par contre, l'exercice journalier du dessin scientifique, est éminemment profitable et utile pour qui veut apprendre à bien observer ; il y aura donc tout avantage à ce que le jeune élève fasse lui-même *ses dessins*, d'après *ses propres* préparations.

Nous avons l'espoir que, conçu dans cet ordre d'idées, notre ouvrage correspond bien au but que nous nous sommes proposé.

DEUXIÈME PARTIE

INSTALLATION GÉNÉRALE

D'UN

LABORATOIRE HISTOLOGIQUE

Il n'est pas indifférent de s'installer au hasard. Voici quelques indications, auxquelles on s'efforcera de se conformer.

LOCAL

Il faut, si possible, choisir un local bien situé, au point de vue de l'orientation, de la température et de l'éclairage. Une exposition à l'abri des rayons directs du soleil sera toujours la meilleure, à moins que l'on ne recherche ceux-ci dans un but tout à fait spécial (microphotographie, etc.). La fenêtre doit être pourvue de moyens de régler la lumière. Pour l'usage ordinaire, des stores de toile blanche remplissent bien le but. Une feuille de papier blanc au mètre, placée avec des punaises devant la fenêtre, fournira un bon écran pour atténuer les rayons du soleil, à défaut de stores en toile. On pourra également se servir d'écrans spéciaux.

Le soir, la lumière utilisée pourra être du gaz, de l'électricité, de l'acétylène, s'il y en a; à défaut, une lampe à huile ou à pétrole serait bonne. Un système d'abat-jour, de lentilles ou d'écrans, construits pour modifier la lumière, pourra, dans de certains cas, rendre des services utiles. On a imaginé, du reste,

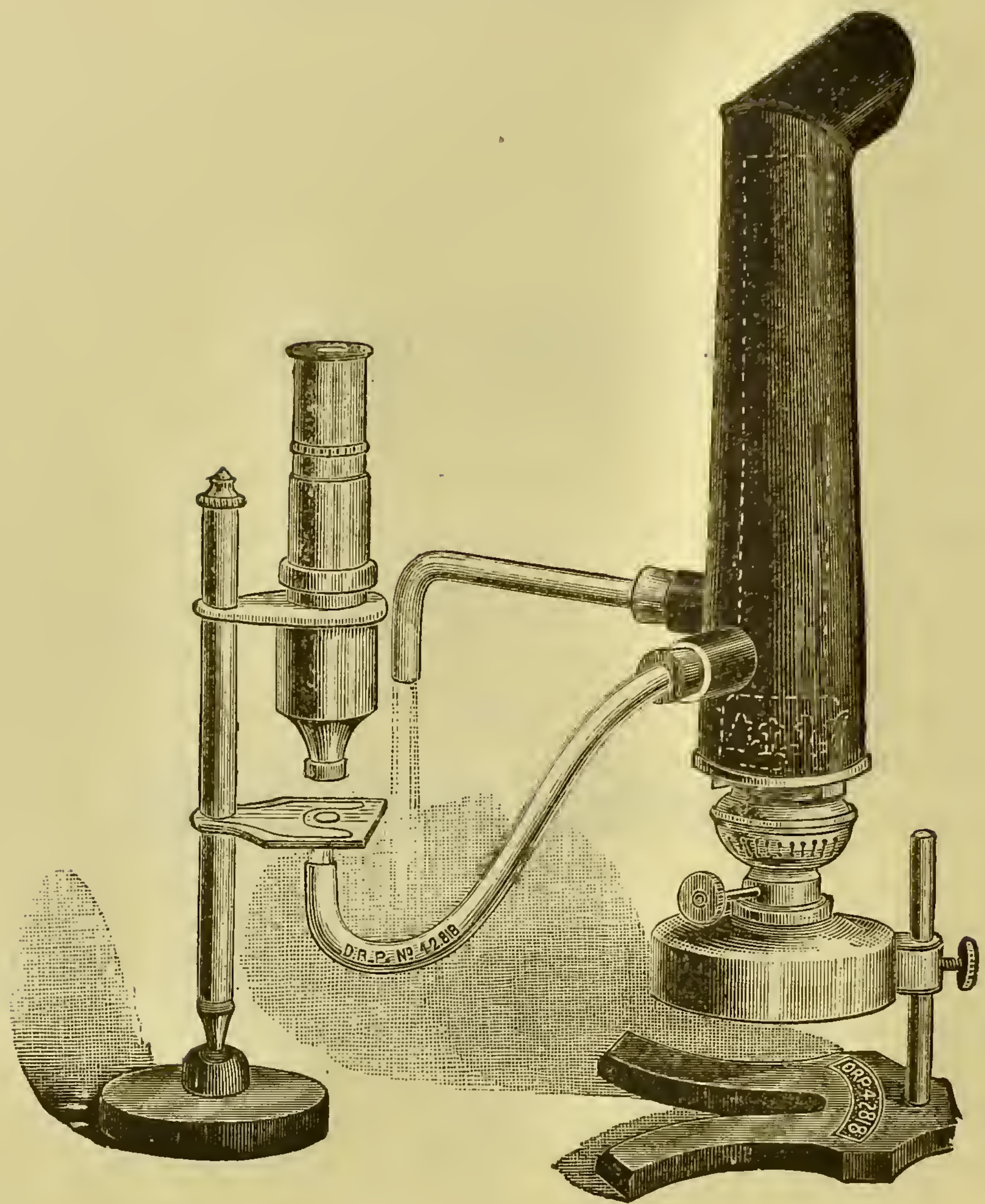


Fig. 1. Lampe de Lassar, à pétrole. Le tube recourbé est mis en place sous la platine du microscope. Le tube coudé fait voir les rayons qui sortent par son extrémité libre. Appareil de la maison Gerhardt, à Bonn.

de nombreux modèles de lampes pour la micrographie; chacun choisira ce qui lui convient le mieux. La lampe de Lassar, à pétrole (fig. 1) ou à gaz (fig. 2), est d'un emploi fort commode; la lumière est conduite directement et d'une façon fort curieuse sous la préparation par un tube en cristal recourbé.

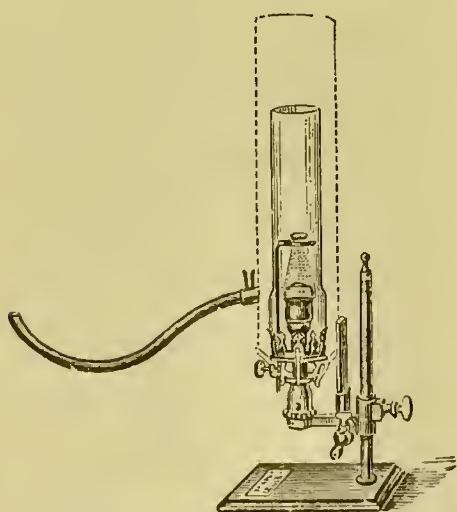


Fig. 2. Lampe de Lassar, à gaz, de la maison Gerhardt, à Bonn.

On peut, pour l'usage courant, se servir de la première lampe venue et atténuer ses rayons, en plaçant au-dessus du diaphragme du microscope, ou immédiatement sous la préparation, une feuille de papier à cigarette enduite d'un peu d'huile.

Quant à la température, elle sera aussi égale que possible, en été comme en hiver.

Disons que ce ne sont pas toujours les installations les plus parfaites qui donnent, au point de vue scientifique, les résultats les plus importants. Bien des travaux remarquables ont été exécutés dans un grenier; le génie propre de l'observateur savait suppléer à tout.

Table de travail. On en construit, qui, avec leurs nombreux tiroirs et leur dessus en verre ou en marbre, sont de véritables bijoux. Pour notre compte, nous sommes d'avis qu'une bonne table en chêne ou en noyer, avec des pieds et un dessus bien solides, sera toujours le meuble le plus pratique; et qu'il vaut mieux réserver son argent, même quand on en a beaucoup à dépenser, pour des achats d'instruments plus utiles, à moins qu'on ne fasse décidement de la microscopie un amusement inoffensif et sans portée scientifique.

INSTRUMENTS INDISPENSABLES AU MICROGRAPHE

L'outillage du microscopiste doit être, pour le travail courant, d'une grande simplicité ; il sera pourtant difficile de se passer des instruments suivants :



Fig. 3. Rasoir a coupes microscopiques, muni d'un arrêt (construit sur les indications de l'auteur par M. Demaurex, à Genève). Ouvert.

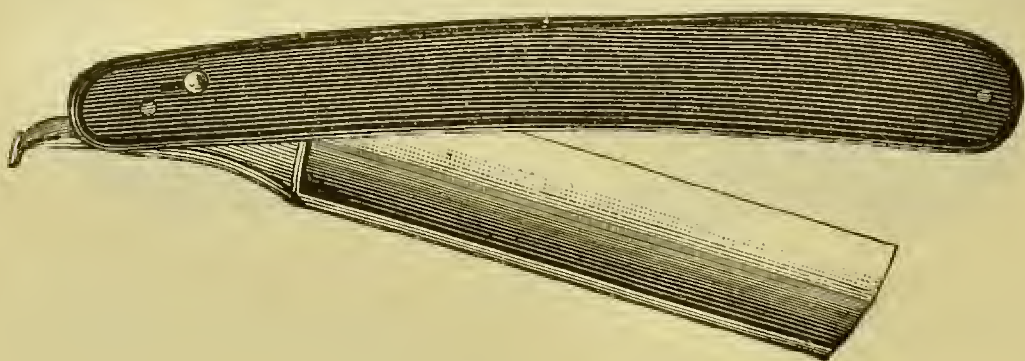


Fig. 4. Le même, à moitié fermé.

a. Un bon *microscope*, muni de lentilles de bonne qualité et d'un bon système d'éclairage (voir plus loin : *Le Microscope*, p. 18).

b. Un bon *rasoir à coupes*, dont une des faces de la lame bien trempée doit être tout à fait plane (fig. 3 et 4) ; le manche possédera un bon arrêt de sûreté pour maintenir l'instrument ouvert. Nous en avons fait construire un par M. Demaurex, à Genève (fig. 5), muni d'un arrêt de sûreté, dont la lame peut être séparée des chasses et fixée aussi au microtome (voy. Zeitschr. f. wiss. Mikroscopie, 1894, vol. XI, p. 465 à 469).

c. Un bon *cuir à repasser*, en parfait état et servant à entre-

tenir le tranchant du rasoir. On fait des cuirs à quatre faces (1re face : pierre à aiguiser; 2me : pâte rouge; 3me : pâte noire;

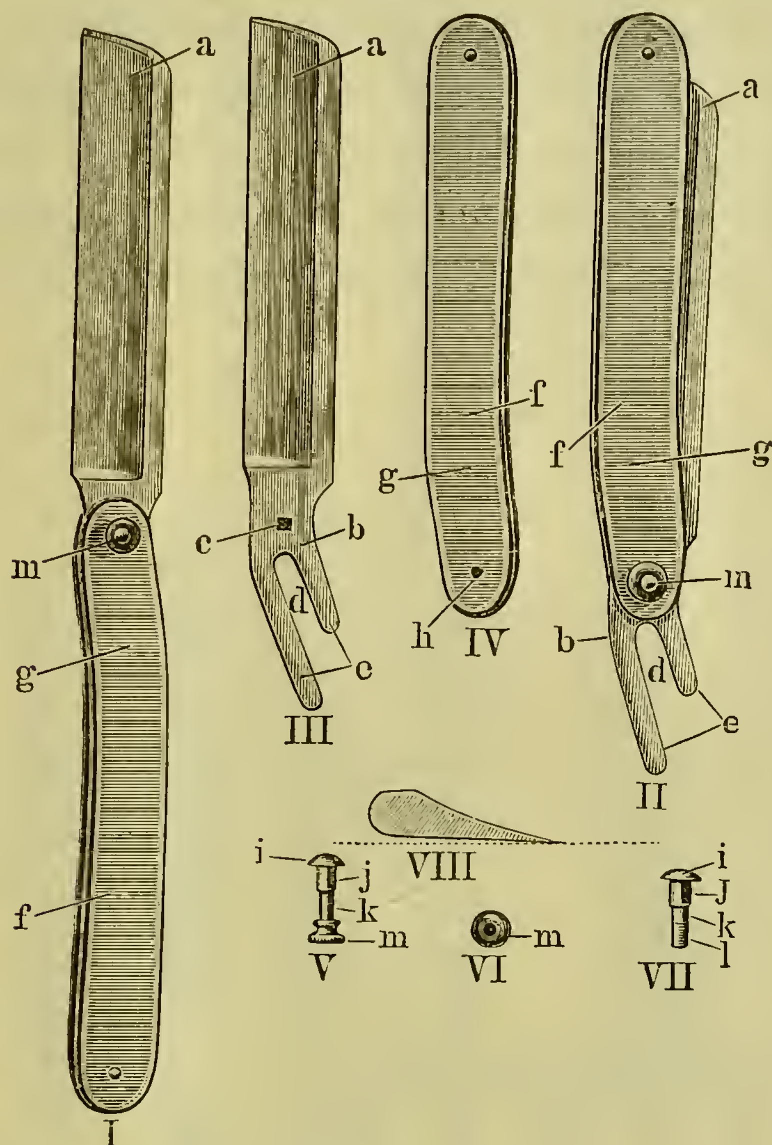


Fig. 5. Rasoir universel pour microscopistes (de l'auteur), construit par la maison Demaurex, à Genève. (D'après un dessin de l'auteur.)

I — Rasoir ouvert, la lame *a* maintenue par l'arrêt *m*, ne peut pas se refermer.
II — Instrument fermé, l'arrêt *m* empêche qu'il ne s'ouvre.
III — Lame isolée, des chasses.
IV — Chasses séparées de la lame.
V — Boulon d'arrêt avec son poulet.
VI — Poulet isolé.
VII — Boulon isolé.
VIII — Coupe transversale de la lame.

Lettres explicatives. — *a* Lame. — *b* Talon de la lame. — *c* Trou carré pour le boulon. — *d* Fente pour laisser passer la vis de serrage du microtome. — *e* Queues du talon pour fixer la lame au microtome. — *f* Intervalle entre les chasses. — *g* Chasses. — *h* Trou des chasses pour le passage du boulon. — *i* Partie carrée du boulon. — *k* Partie ronde du boulon. — *l* Pas de vis pour le poulet. — *m* Poulet.

4me : cuir fin). Ces cuirs, d'une grande commodité, permettent d'entretenir en tout temps soi-même son instrument, sans avoir jamais recours à l'aiguiseur (fig. 6).

d. De *petits ciseaux fins*, avec une pointe effilée et bien exacte ; les deux lames tranchantes doivent avoir une trempe égale, de manière à ne pas mordre l'une sur l'autre (fig. 8). Les ciseaux à lame *courbe* sont parfois d'un bon secours (fig. 7).

e. Une paire de *pincettes* fines, dont les mors s'articulent exactement (fig. 9).

f. Des *aiguilles à dilacérer* (fig. 10 et 11) en bon acier et munies d'un manche un peu long. Leur pointe doit être longue, rigide,



Fig. 6.
CUIR A REPASSER A QUATRE FACES (de Zimmer, à Berlin).

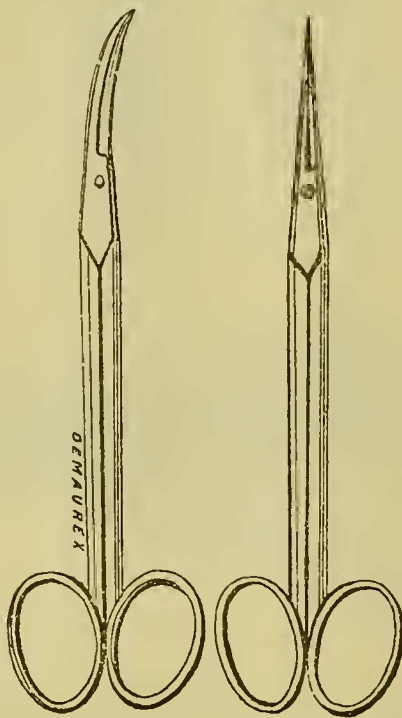


Fig. 7.
PETITS CISEAUX COURBES.

Fig. 8.
PETITS CISEAUX DROITS.

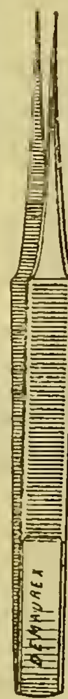


Fig. 9.
PINCETTES A MORS FINS.



Fig. 10 et 11.
AIGUILLES A DISSOCIER ORDINAIRES.

fine et d'une trempe moyenne ; sans cela elle risque de se courber ou de se briser trop facilement. Les aiguilles à pointe coudée ne sont d'aucune utilité. On fabrique des manches très pratiques qui permettent de changer à volonté l'aiguille ; M. Demaurex, fabricant d'instruments, à Genève, en a construit, sur notre conseil, qui sont d'un maniement facile (fig. 12 et 13). Notre aide-préparateur, M. E. Jaccard, a imaginé ingénieusement d'utiliser des manches ronds d'horloger, qui permettent aussi de changer rapidement les aiguilles.

g. Une *spatule* à transporter les coupes, à lame large, flexible et en métal inoxydable. Ce petit instrument (fig. 14 et 125), dont l'emploi tend à se généraliser de plus en plus, est très agréable; il permet de transporter facilement les coupes les plus fines sans les endommager. Le poli de la lame ne doit pas être trop parfait; sans cela, les liquides (l'eau surtout) ne mouillent le métal que difficilement.





Fig. 12 et 13. AIGUILLES A MICROSCOPE DÉMONTABLES (de l'auteur), construites par M. Demaurex, à Genève.

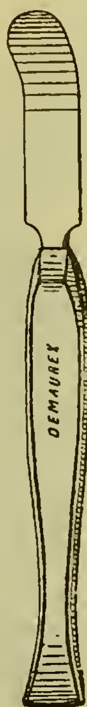


Fig. 14. SPATULE A TRANSPORTER LES COUPES.



Fig. 15. SCALPEL FIN.

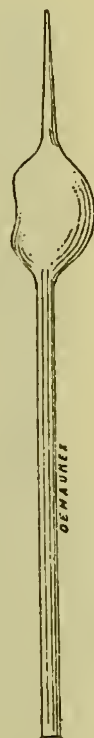


Fig. 16. PIPETTE à boule aplatie pour empêcher qu'elle ne roule (de l'auteur).

h. Des *verres de montre* ordinaires et des *godets*. Pour donner plus de stabilité aux verres de montre, il est bon d'user, à la meule ordinaire, une facette plane sur leur surface convexe ou de les coller, avec un ciment, sur une petite plaque de verre. Les *godets à lavis*, superposables et en porcelaine, tels que les emploient les architectes, sont bien appropriés aux usages de la microscopie : ils prennent peu de place et permettent de conserver les objets à l'abri de la poussière et de l'évaporation. Pour les

liquides très volatils, il faut des récipients qui aient une fermeture parfaite.

i. Un ou deux *verres* ordinaires et à pied. Ces derniers doivent se terminer en pointe ; en sorte que les éléments en suspension dans un liquide puissent, en vertu de leur propre pesanteur, tomber au fond, et se rassembler dans un petit espace, d'où l'on pourra facilement les pêcher, au moyen d'une pipette.

k. Quelques *scalpels* (fig. 15), des *pipettes* (fig. 16) et des *baguettes* en verre.

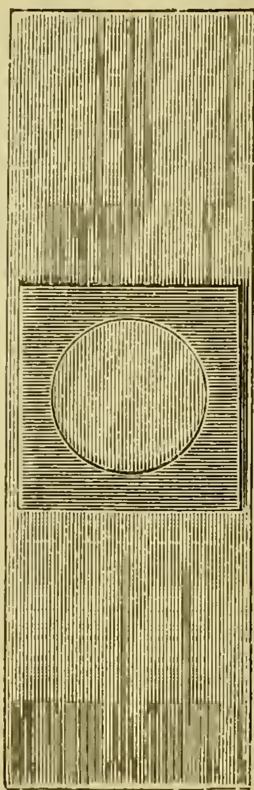


Fig. 17. Porte-objet a cellule en verre ou en gutta-percha.

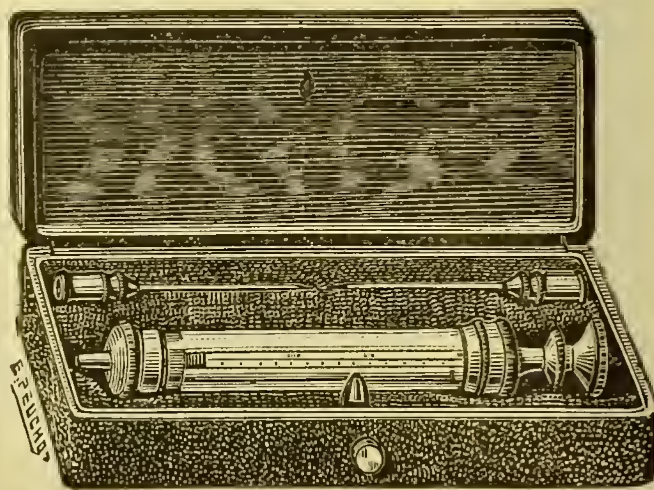


Fig. 18. Seringue de Pravaz avec ses canules, dans son étui.

l. Des *pinceaux* à poil doux et bien emmanchés.

m. Des *flacons* à réactifs et des *bocaux* de différentes grandeurs.

n. Tout ce qu'il faut pour *dessiner*. Le papier à dessin doit être d'un grain fin et les crayons plutôt durs.

o. Des *lames* (porte-objets, slides, verres), simples ou à cellules (fig. 17), et des *lamelles* (couvre-objets, covers, verrelets), d'un format uniforme.

p. Des *étiquettes,* bien gommées, ou mieux albuminées.

Tels sont les objets indispensables qu'on pourra, si on le désire, rassembler dans un étui *ad hoc*.

Si on souhaite un outillage plus complet, on fera bien de joindre aux instruments ci-dessus :

a. Une *seringue* à injections microscopiques, munie d'un bon piston et d'un jeu de canules bien faites (fig. 83 et 84).

b. Une *seringue de Pravaz* à canule d'or et d'acier (fig. 18). Cet instrument très coûteux, il y a quelques années, est devenu

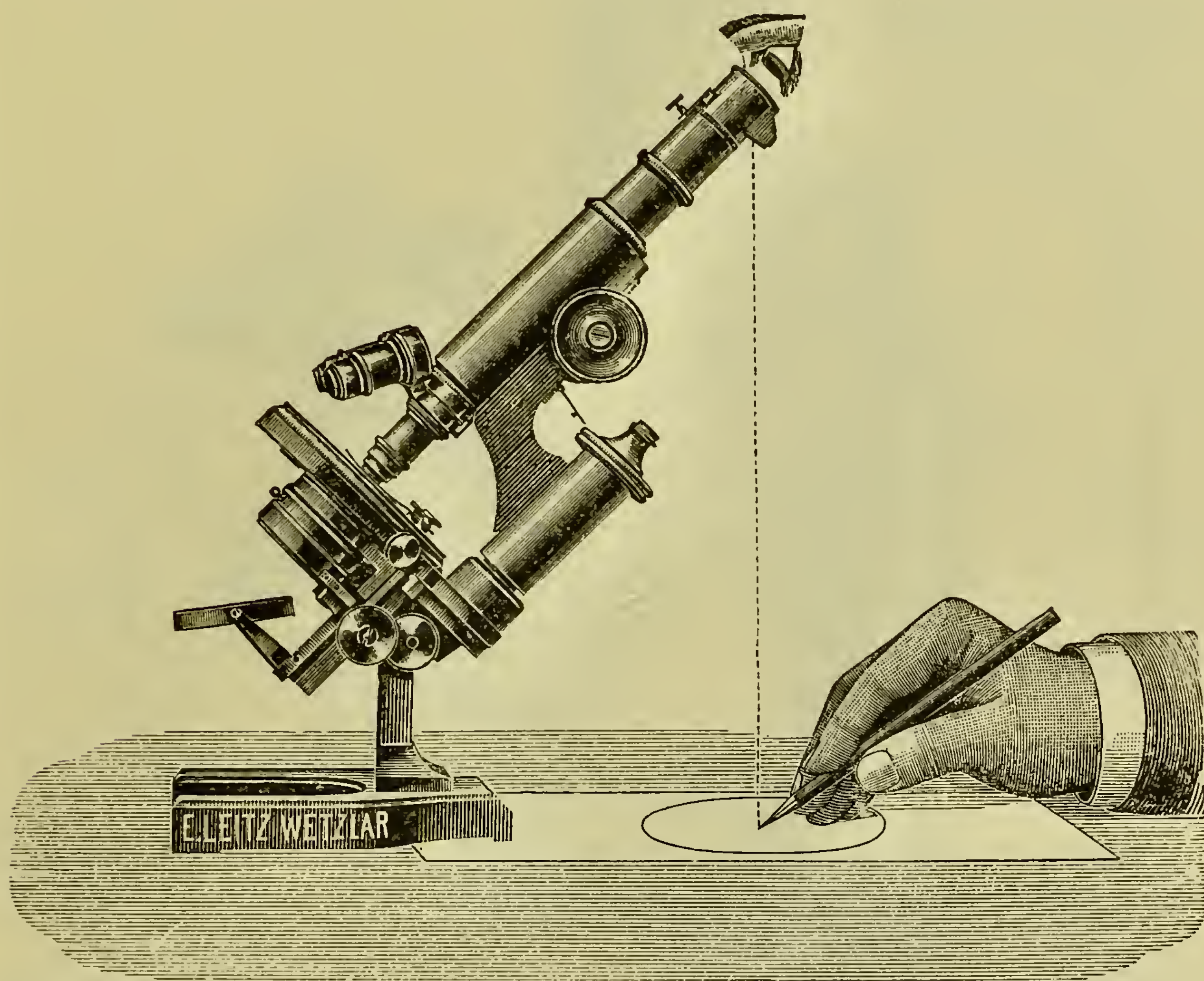


Fig. 19. Oculaire a chambre claire, pour dessiner avec le microscope inclinant (de la maison Leitz, à Wetzlar).

d'un prix plus abordable. Les seringues à monture en caoutchouc et assemblées à vis directement sur le tube de verre, sont les meilleures pour notre usage. Celles montées à la gomme-laque se dérangent trop facilement.

c. Une *chambre claire* à dessiner. Les meilleures sont incontestablement celles de Leitz (fig. 19 et 20), de Winkel, d'Abbe (fig. 22), de Nachet, ainsi que de Malassez (fig. 23). L'*appareil de projection* d'Edinger (fig. 24) nous a souvent rendu de grands services, lorsque nous devions dessiner de file une série nom-

breuse de coupes, en vue de la reconstruction graphique et plastique.

d. Des *lames de liège,* pour fixer les animaux, des *épingles,* du *fil,* et d'autres petits accessoires trop longs à énumérer.

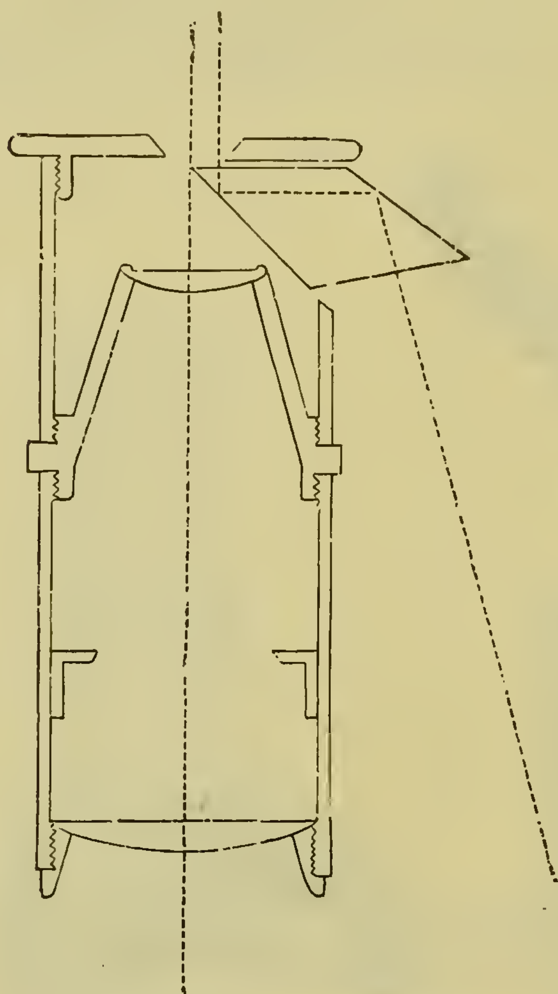


Fig. 20. Esquisse de l'oculaire a chambre claire (fig. 19).

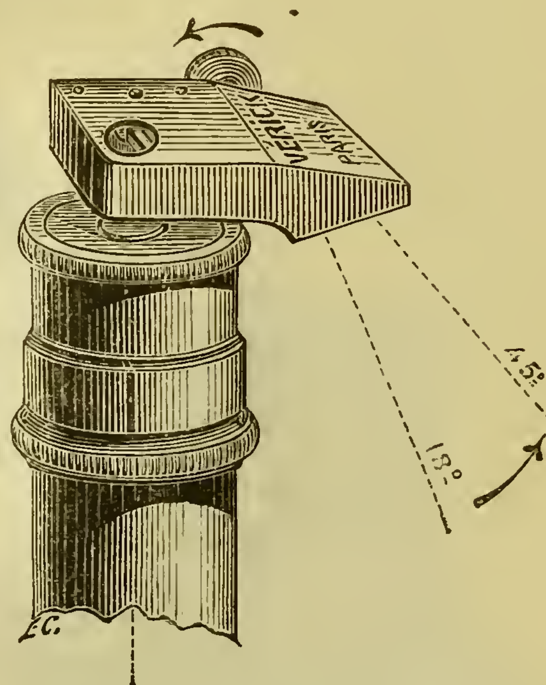


Fig. 23. Chambre claire de Malassez (construite par M. Vérick, à Paris).

e. Pour contenir les réactifs les plus usuels, le petit *nécessaire de Ranvier* (voir le « Traité technique » de cet auteur) ; il est très pratique, surtout dans les recherches courantes.

Comme nous venons de voir, l'outillage courant du microscopiste n'est ni très compliqué, ni difficile à se procurer. Au moyen de ces quelques instruments, il sera aisé de répéter toutes les expériences que nous allons décrire.

Plus tard, quand il aura acquis de la pratique et du goût, le jeune histologiste pourra compléter son petit laboratoire par quelques autres acquisitions : *microtome, objectifs à immersion, appareils de polarisation,* etc.

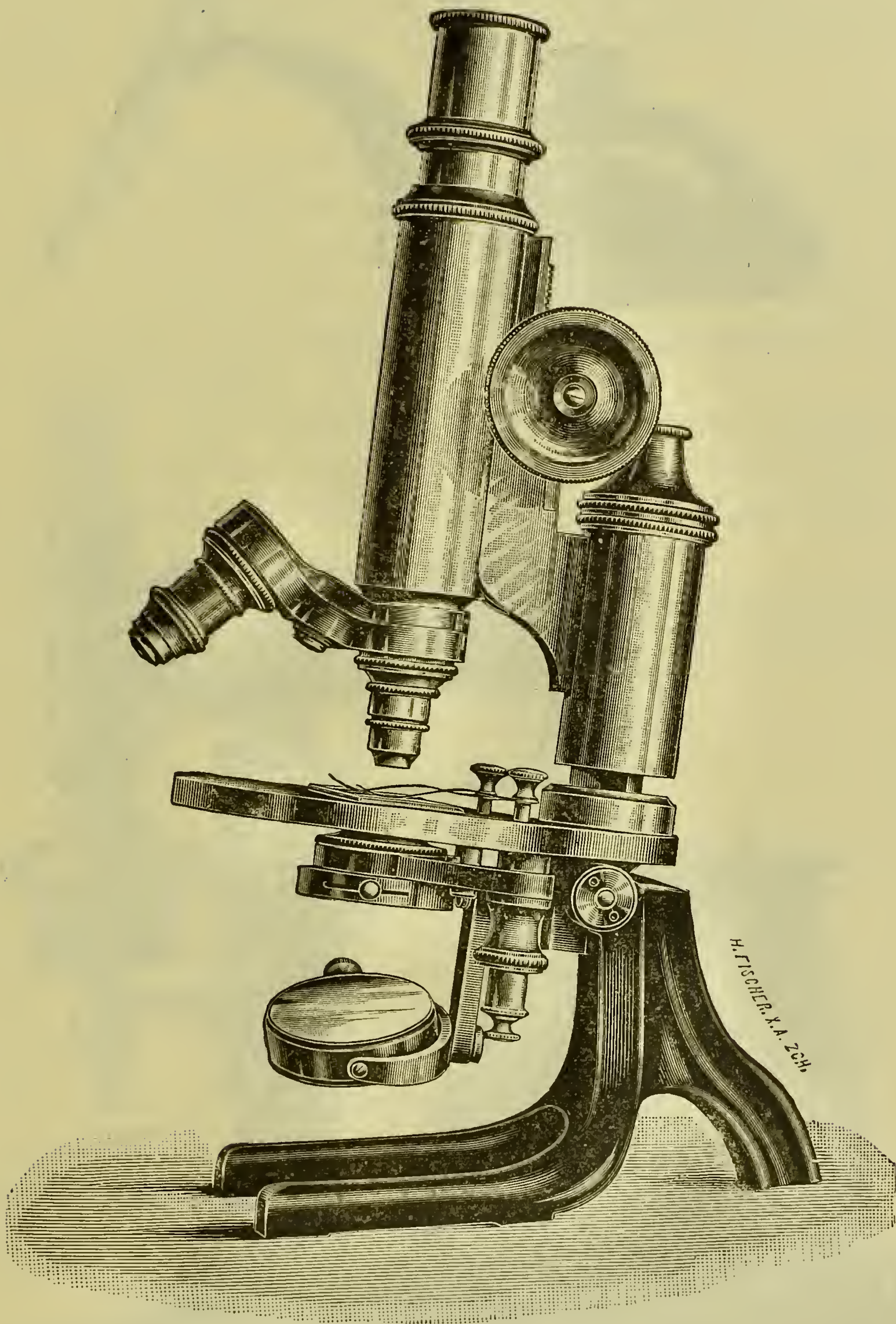


Fig. 21. Microscope moyen modèle (de Zulauf et C°, à Zurich).

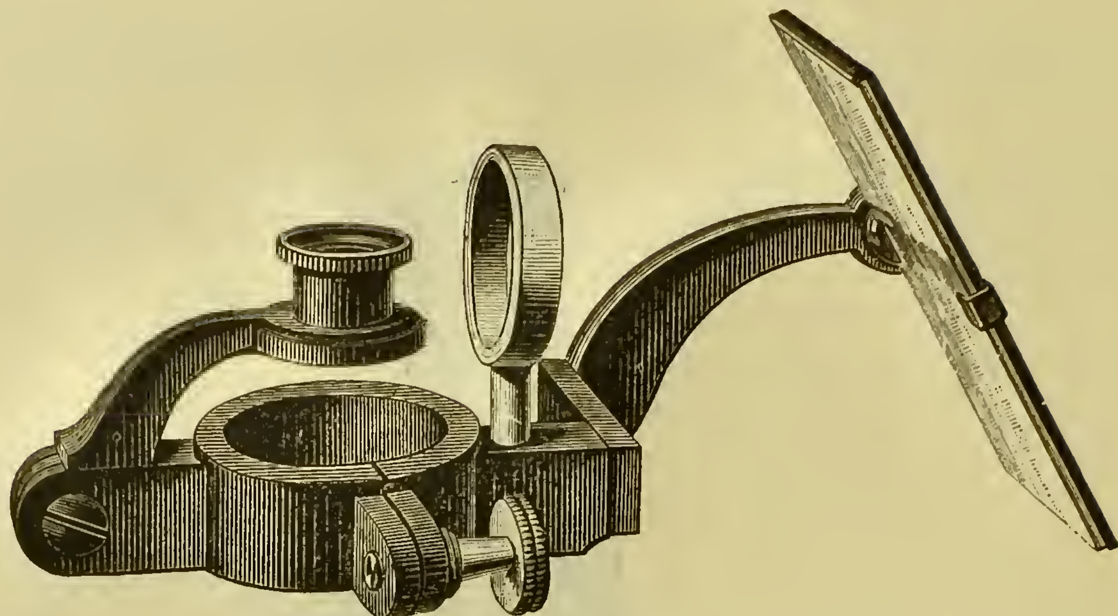


Fig. 22. Chambre claire d'Abbe, modifiée et construite par Zulauf & C°.

Fig. 24. Appareil de projection d'Edinger, pour dessiner dans un local noir, pourvu d'une chambre photographique (de Leitz, à Wetzlar).

Mais, pour commencer, il est important de travailler d'*une manière très simple;* on ne saurait trop insister là-dessus. Comme dans l'exercice de la musique, il est des difficultés qu'il faut avoir surmontées graduellement, avant de passer à des choses plus compliquées.

Dans le courant de cette énumération rapide, nous avons fréquemment fait usage du terme de « bon. » Il est, en effet, plus important qu'on ne le supposerait au premier abord, de se pourvoir de « bons instruments. » Leur coût n'est pas sensiblement plus élevé, leur durée est plus longue, et les services rendus sont supérieurs.

On doit s'habituer de suite à bien *entretenir* tout son matériel d'expérimentation, et à assigner sur sa table de travail une *place fixe* pour chaque instrument; cette pratique fera gagner beaucoup de temps par la suite.

Il faut surtout s'astreindre à une propreté méticuleuse; un bon histologiste doit savoir travailler proprement dans un salon et sur un parquet ciré, sans rien endommager.

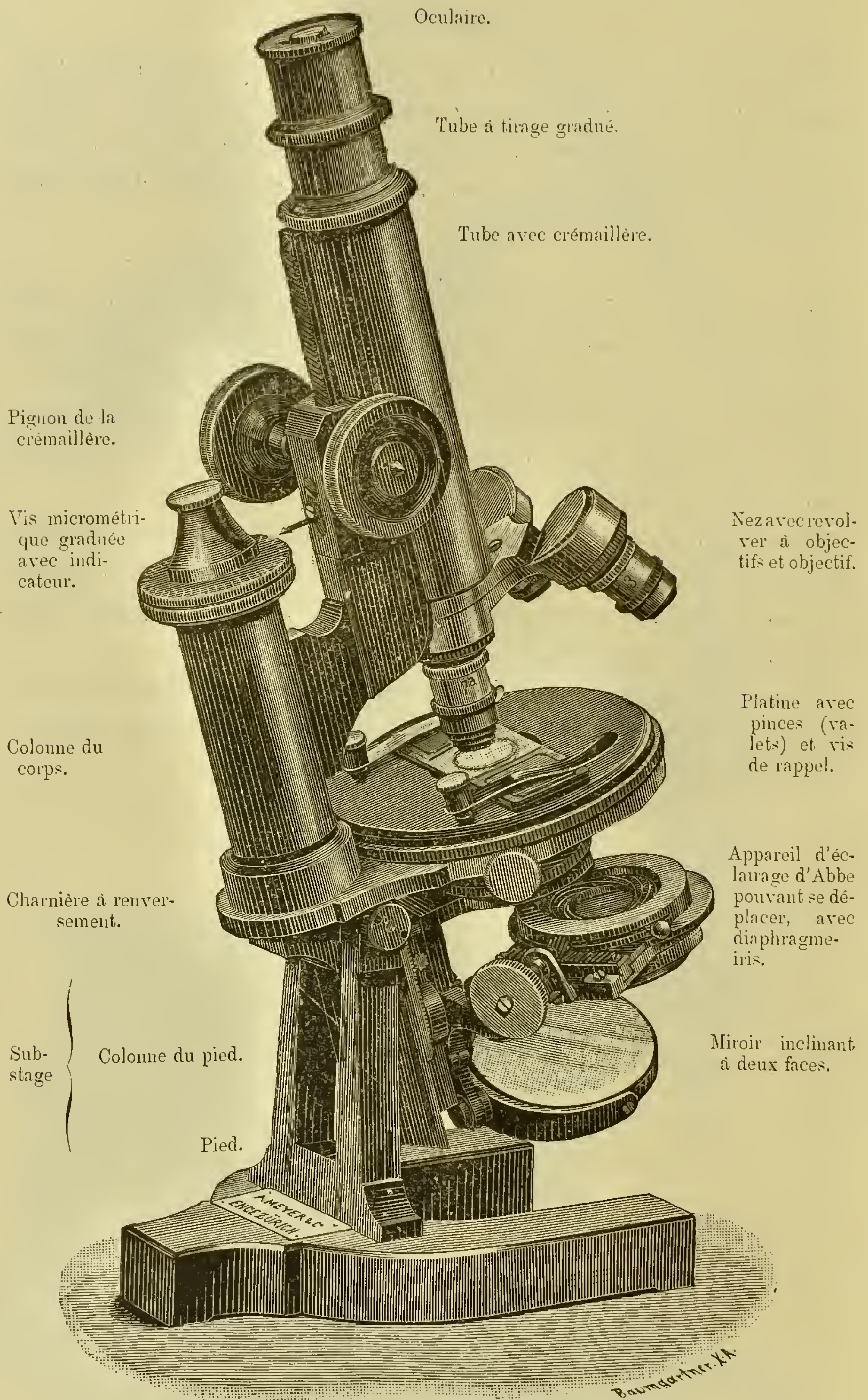


Fig. 25. Microscope complet (de Zulauf & Co, à Zurich).

NOMENCLATURE DU MICROSCOPE

LE MICROSCOPE

Nous ne saurions trop recommander aux étudiants d'acheter au plus vite un microscope. Rien ne peut remplacer l'habitude prolongée de son propre instrument; et l'on peut même dire, sans paradoxe, qu'il y a avantage à en connaître exactement les défauts.

Achat d'un microscope. Si l'on est à portée, le mieux c'est de s'adresser à un micrographe de profession. Lui seul sera en état de donner des conseils intelligents pour l'acquisition d'un instrument, qui corresponde vraiment au but que l'on se propose.

On peut dire, en thèse générale, que les microscopes que l'on voit en montre chez les opticiens ordinaires sont rarement des instruments sérieux; ceux-ci doivent toujours être commandés directement chez un *constructeur,* dont la réputation scientifique est reconnue. A la rigueur, on fera venir un ou plusieurs catalogues, on comparera et l'on fera directement sa commande.

Pour commencer, il sera toujours avantageux d'acheter d'emblée une bonne monture (stativ), pourvue d'un jeu de grossissements courants. Plus tard seulement, et, au fur et à mesure des besoins, on fera l'acquisition de lentilles et d'accessoires spéciaux; et cela d'autant mieux que ces derniers ne pourront être utilisés avec fruit qu'au bout d'un certain temps, quelques dispositions naturelles que l'on possède d'ailleurs pour l'observation scientifique.

Voici les adresses que nous pouvons recommander en toute conscience. En Suisse : MM. *Zulauf & C°,* à Zurich, qui font la construction complète d'instruments excellents et d'un coût très modéré (fig. 21, 25 et 104); la maison *Thury & Amey* (fig. 26 et 27)

et la *Société genevoise pour la construction d'appareils de physique,* toutes deux à Genève, fabriquent de bons stativs, elles

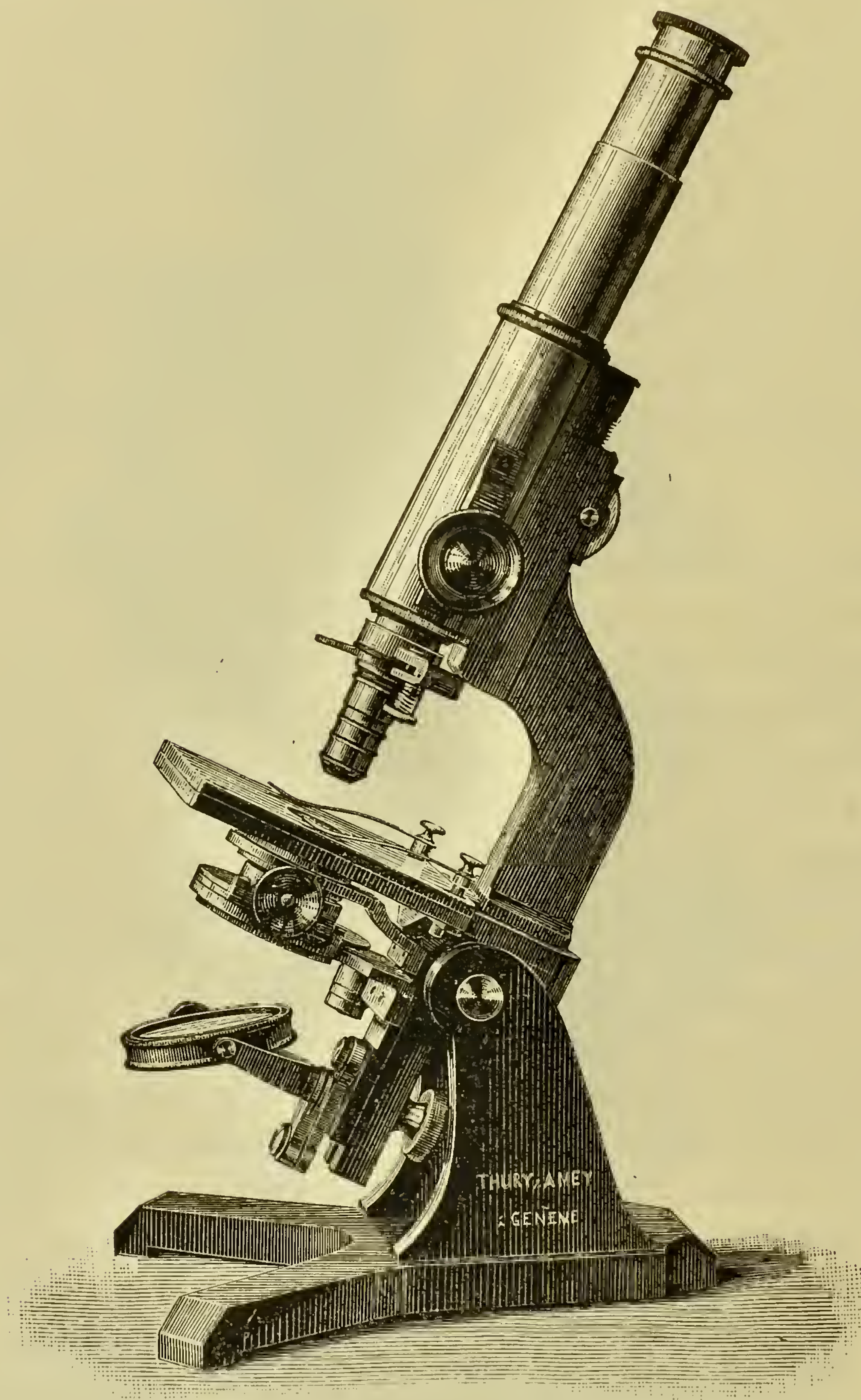


Fig. 26. Microscope grand modèle (de Thury & Amey, à Genève).

ont des accords avec les grandes fabriques de l'étranger pour ce qui concerne la fourniture des lentilles. — En France : *Stiassnie,*

successeur de Vérick (fig. 28, 29, 57 et 58); *Nachet; Bésu-Hausser & C°* (successeurs de Prazmowski), tous à Paris. — En Allemagne : *Leitz*, à Wetzlar (fig. 19, 38 et 105); *C. Zeiss*, à Jéna (fig. 30); *Hartnack*, à Berlin, etc. — En Autriche : *C. Reichert*,

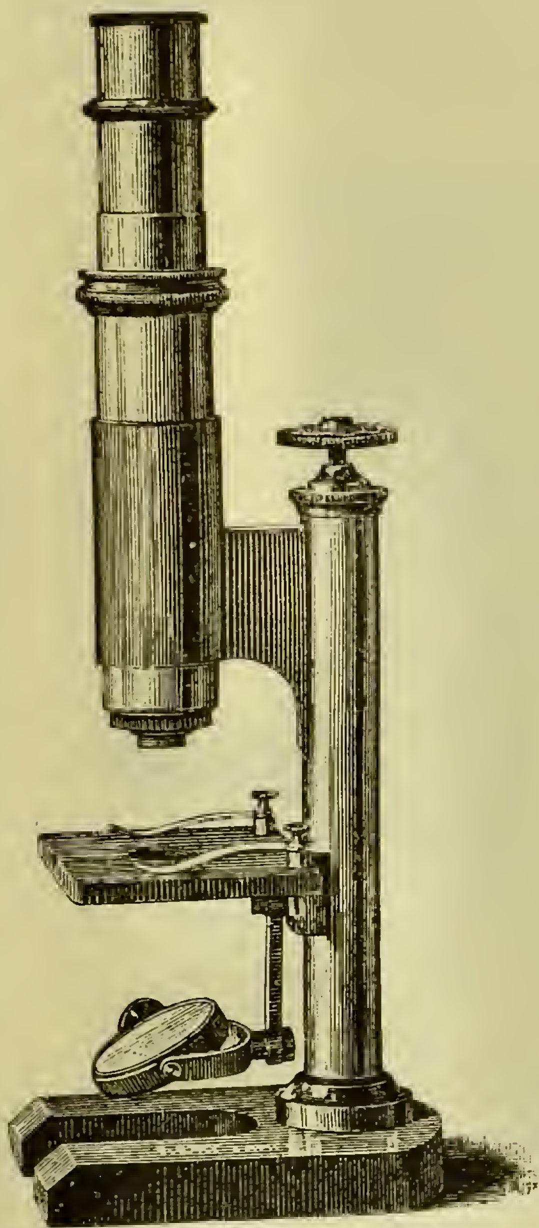
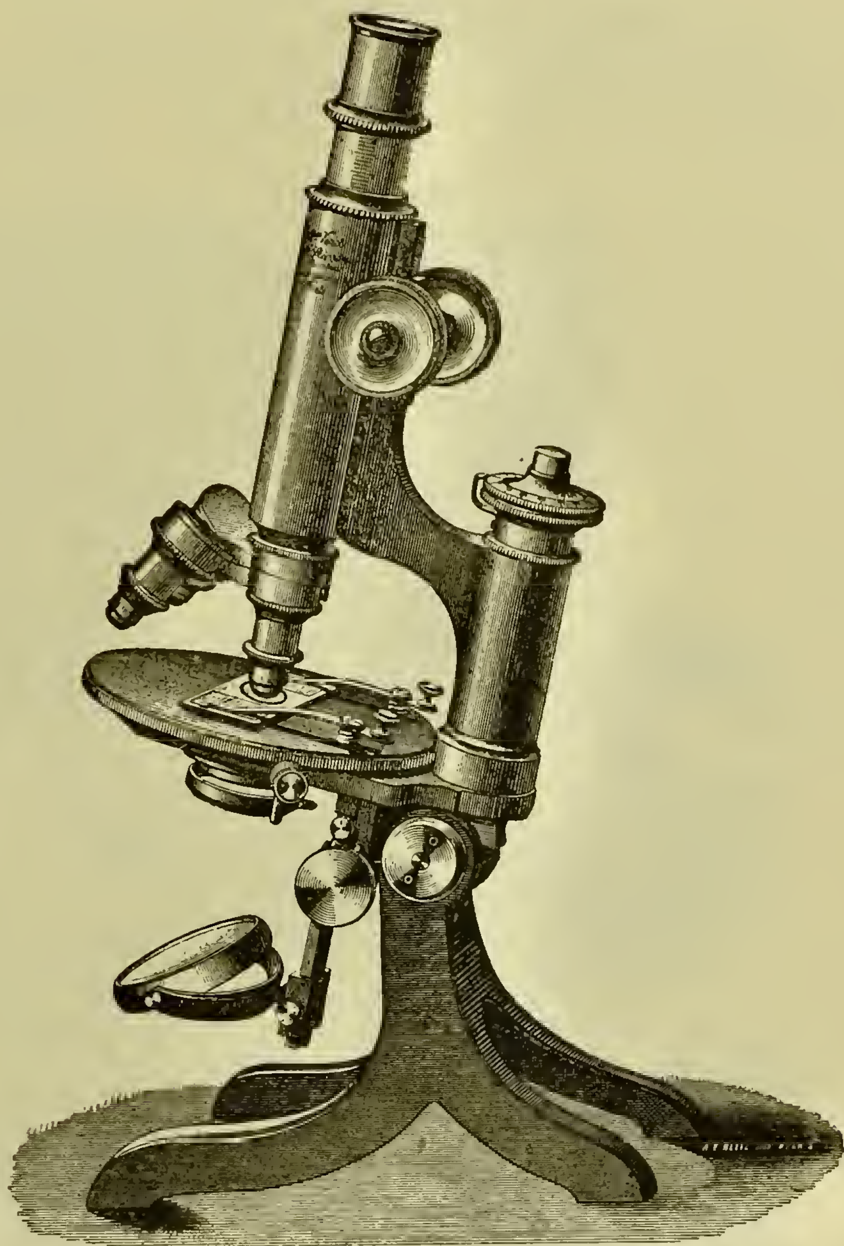


Fig. 27. Microscope petit modèle (de Thury & Amey, à Genève).



MODELE DE L'INSTITUT PASTEUR

Fig. 28. Microscope (de Stiassnie, successeur de Vérick, à Paris).

à Vienne (fig. 31 et 56). En Angleterre : *R. et J. Beck; Th. Ross & C°; Powel and Lealand; J. Swift and Son*, etc., etc.

Disons de suite que les microscopes anglais, outre qu'ils sont très chers, ne sont pas toujours exclusivement construits pour un public scientifique; leur mécanisme présente des complications parfois inutiles et dont un observateur habile saura facilement se passer.

Composition, nomenclature et qualités des différentes parties du microscope composé.

Chaque microscope possède actuellement deux parties principales : la *monture* et les *lentilles,* avec leurs *accessoires.*

La **monture** présente à considérer les parties suivantes : un agencement de support général (le *pied* ou *stativ*) ; un support

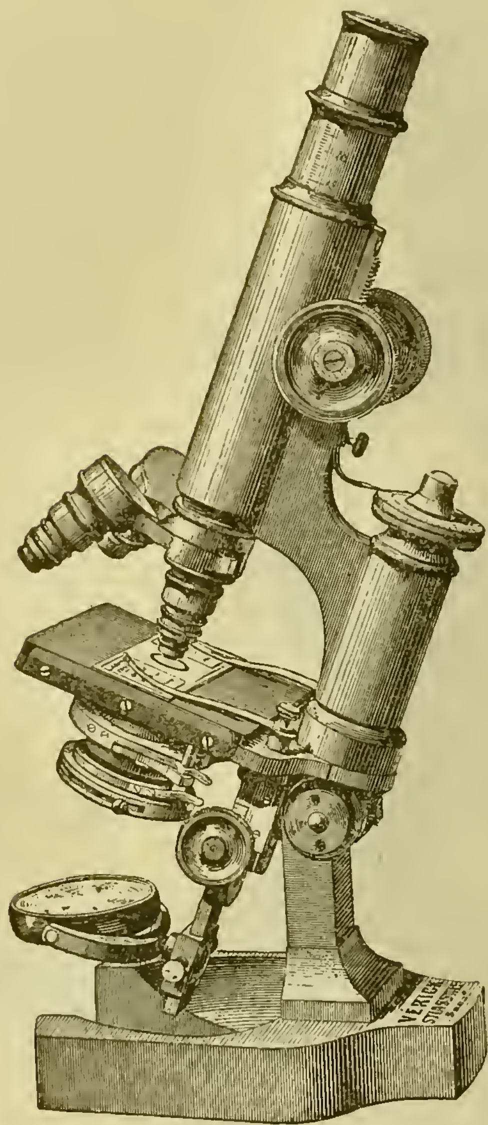


Fig. 29. Microscope (de Stiassnie, successeur de Vérick, à Paris).

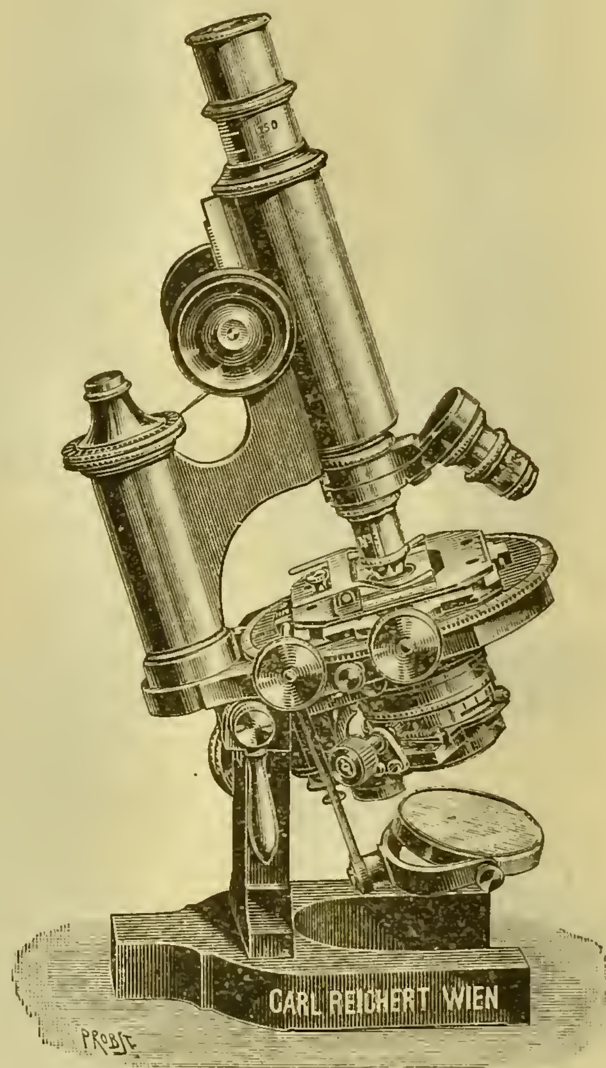


Fig. 31. Microscope complet, avec platine mobile (de C. Reichert, à Vienne).

pour la préparation microscopique (la *platine*) ; un support pour les lentilles (le *tube*) ; un mécanisme pour l'éclairage (*miroir, diaphragmes, condensateurs ; lentille,* etc.) ; un mécanisme pour la mise au point (*tube de tirage, crémaillère, vis micrométrique,* etc.) ; — enfin, parfois, d'autres dispositions spéciales, telles que : *renversement* du corps, *platine tournante, rotation* sur l'axe, *platine mobile,* avec ou sans graduations, etc. Pour cer-

taines recherches, le microscope peut être armé d'appareils particuliers (*polariscope, microspectroscope* (fig. 32), *appareil microphotographique, micromètres* (fig. 91), *chambre claire* pour dessiner (fig. 19 à 23), *appareil binoculaire,* etc., etc.).

Reprenons en détail chacune de ces parties principales.

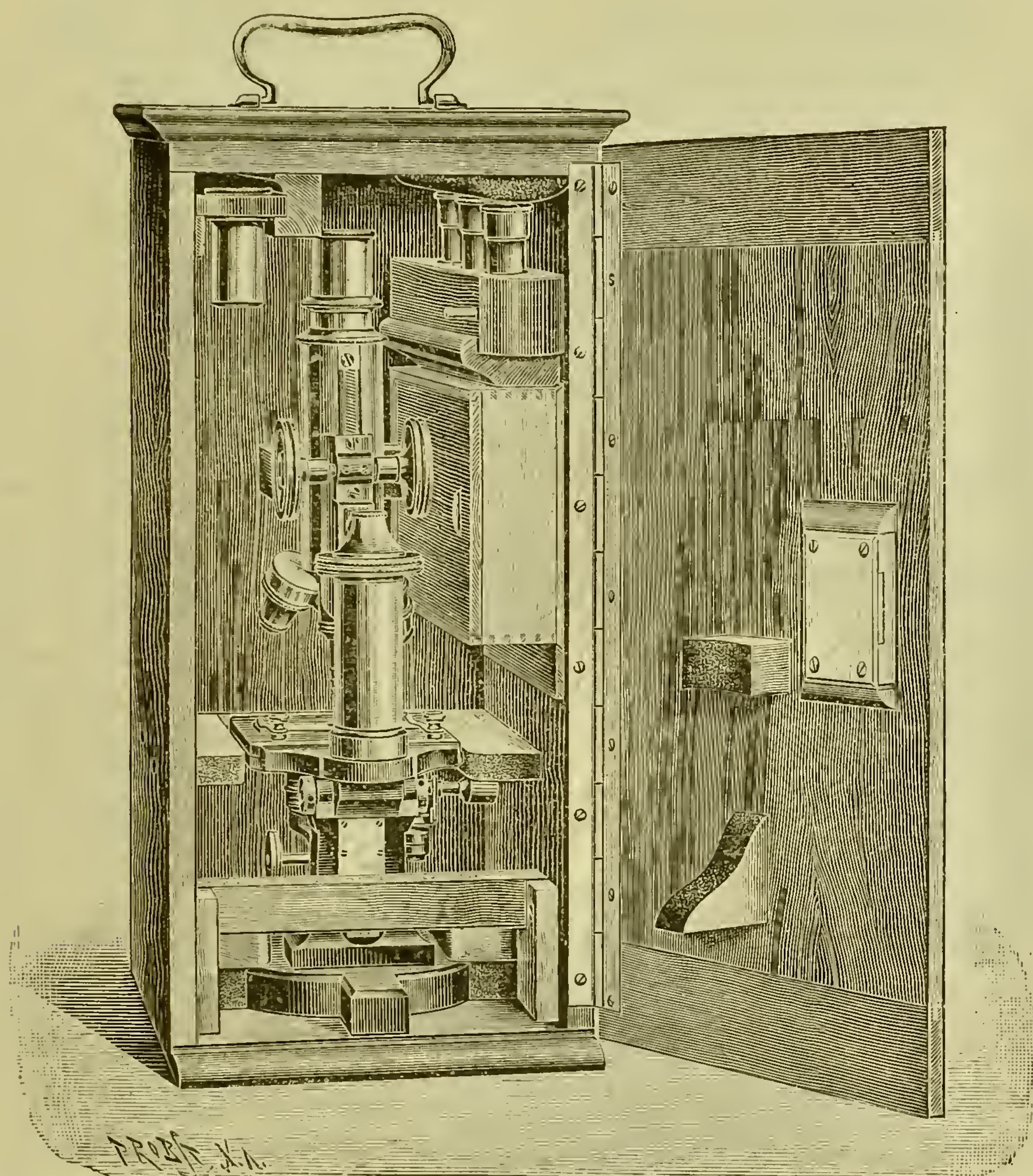


Fig. 30. MICROSCOPE DE ZEISS, à Jéna, dans son étui, ayant la forme d'une petite armoire.

Le PIED sera large et lourd, de manière à donner à l'instrument une bonne base. La forme des pieds varie, du reste, beaucoup d'un constructeur à l'autre, sans que cela ait une grande importance; l'essentiel est qu'il repose sur la table par trois points d'appui écartés, de façon à assurer à l'instrument la plus grande stabilité possible. On vernit volontiers cette partie en noir. Cela

repose sur une idée très juste : quand on observe avec les deux yeux ouverts, comme cela doit se faire couramment, l'œil inoccupé n'est pas dérangé par les reflets du métal. Le pied doit être garni dessous, de manière à ne pas endommager les tables sur lesquelles il repose. On peut faire cette garniture soi-même quand elle fait défaut : il suffit de fixer un peu de drap, ou mieux de peau chamoisée, avec de la colle forte.

La PLATINE doit être large et construite avec solidité. Elle est parfois garnie de verre ou de gutta-percha; dans ce cas, les réactifs risquent moins de l'endommager. Beaucoup de constructeurs préfèrent la gutta-percha au verre ou au métal, parce que, dans les observations de pièces vivantes, elle soustrait moins la chaleur de la préparation. Toutefois il faut se souvenir que la gutta-percha ne résiste pas également bien à tous les réactifs utilisés en microscopie : la térébenthine, les essences, le baume du Canada, les diverses résines la ramollissent et la dissolvent. La platine est armée d'une paire de *pinces* (les *valets*), destinées à fixer la préparation en étude. Elle est percée d'un *trou central* pour laisser passer la lumière; cette ouverture sera suffisamment grande, pour permettre l'observation facile avec de faibles grossissements et l'éclairer oblique des objets.

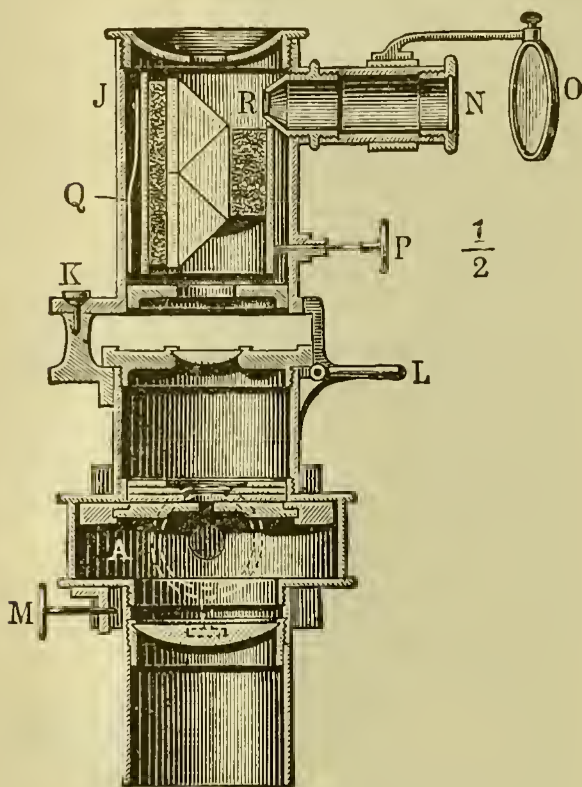


Fig. 32. MICROSPECTROSCOPE (de Zeiss, à Iéna).

Les platines des microscopes anglais sont armées de nombreuses vis, destinées à faciliter le déplacement du porte-objet et qui, à notre sens, sont parfaitement inutiles et même gênantes dans l'observation courante. Cependant, depuis les progrès de la bactériologie, l'usage des platines graduées, fixes ou mobiles (fig. 25, 31 et 33), s'est répandu sur le continent d'une façon générale. On

en a construit bien des modèles différents. Dans de certains instruments (microscopes pour la minéralogie (fig. 104), par exemple), il y a une *platine tournante* avec des graduations très précises.

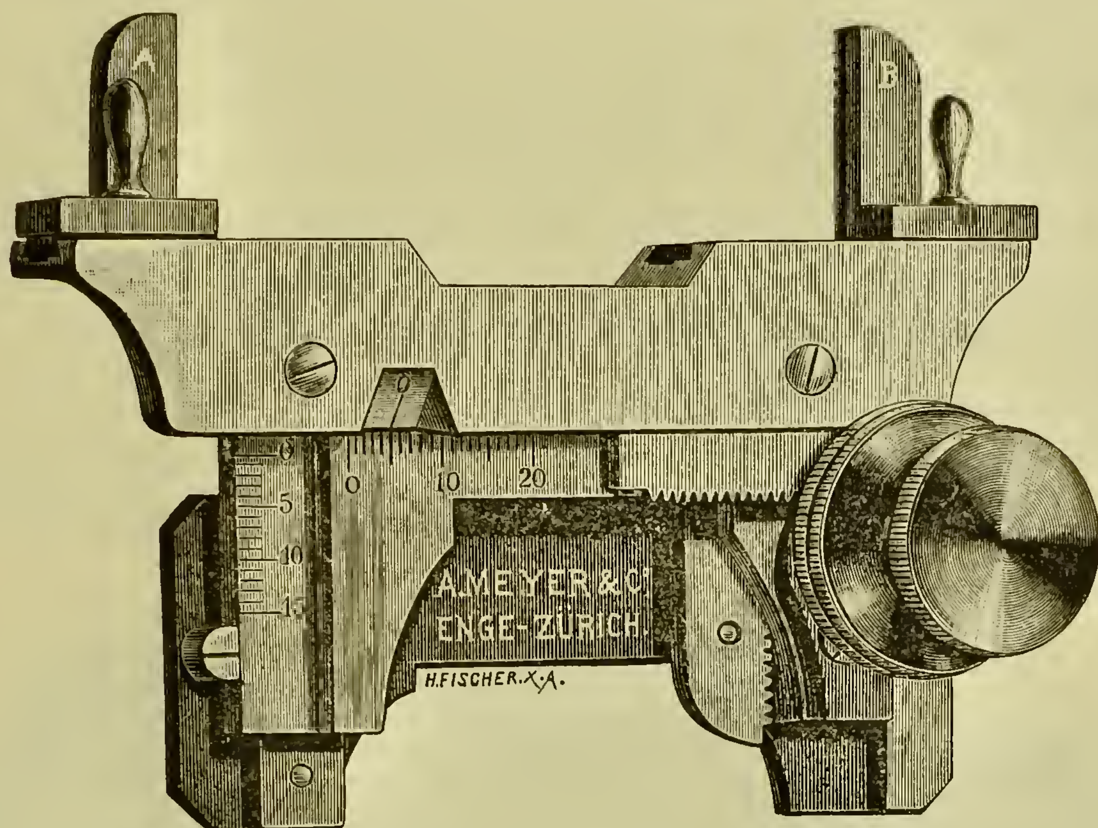


Fig. 33. Platine a charriot mobile, graduée et a mouvements a crémaillère, (de Zulauf & C°, à Zurich).

Beaucoup de microscopes possèdent actuellement une platine d'un maniement commode et dont les mouvements sont commandés par deux boutons (fig. 25 et 28 par exemple).

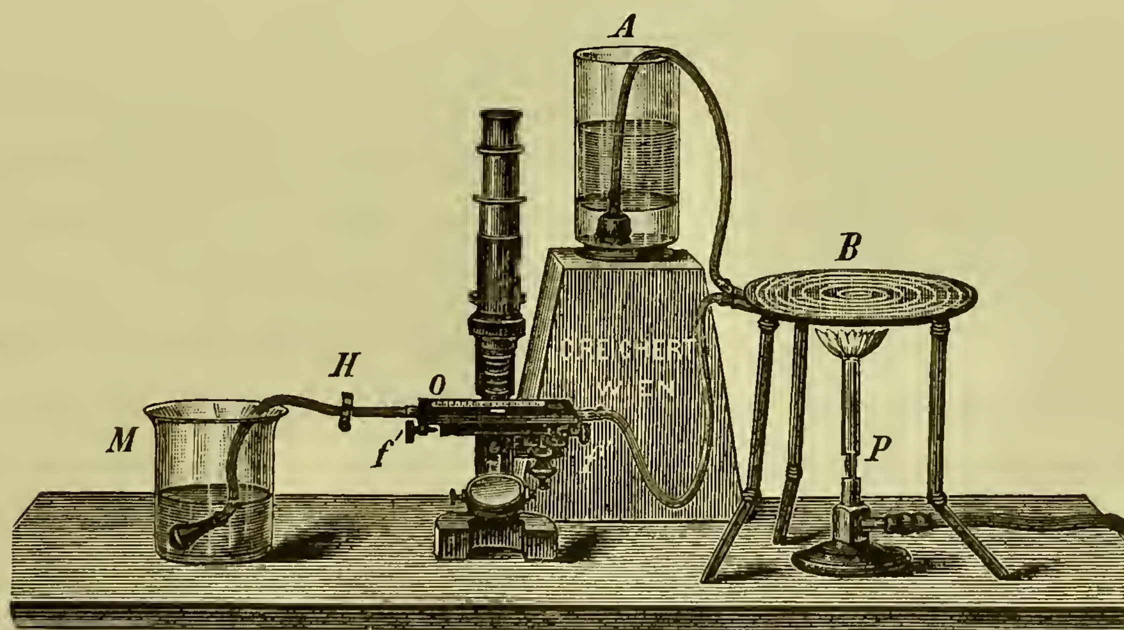


Fig. 34. Microscope avec platine chauffante (de C. Reichert, à Vienne).

La platine microscopique doit être placée à une bonne hauteur, pour permettre d'ajuster au-dessous (dans *sub-stage*) certains

accessoires souvent indispensables : illuminateurs, condensateurs, pièces du polariscope, etc.; elle ne devra cependant être trop élevée au-dessus de la table de travail, afin que les bras de l'observateur puissent reposer commodément sur celle-ci (fig. 25, 26 et 105). La largeur de la platine doit être suffisante pour qu'on puisse tourner indistinctement sa préparation en tous sens. Comme appareil accessoire, depuis les belles recherches de Max Schultze, on construit des *platines chauffantes,* basées sur différents principes (chauffage direct, eau chaude (fig. 34 et 35), électricité, etc.).

Quant au TUBE, il faut avant tout, qu'il soit bien centré et qu'il permette l'ajustage facile des objectifs et des oculaires. Son

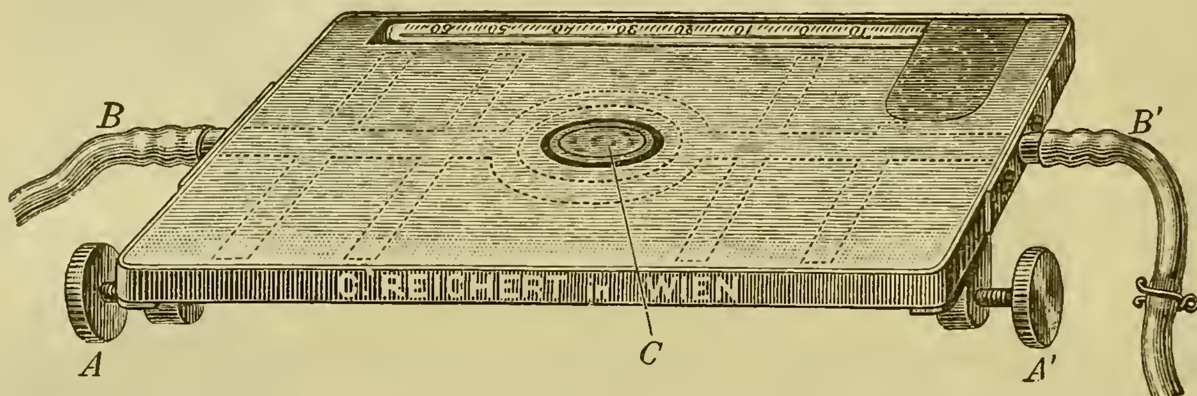


Fig. 35. PLATINE CHAUFFANTE (de C. Reichert, à Vienne).

diamètre intérieur ne doit pas être trop petit, surtout si l'on désire faire de la microphotographie (fig. 136). Sa longueur devra être suffisante. Sous ce dernier rapport, il y a une grande différence entre les microscopes anglais et ceux du continent : ces derniers sont plus longs. Les tubes les plus pratiques sont ceux dits *à tirage,* qu'on peut, au moyen d'un mécanisme très simple, régler à la longueur voulue (fig. 25). Les grands modèles de microscopes continentaux sont actuellement tous pourvus d'un tube à tirage *gradué.*

Il est plus important qu'on ne le croit communément que l'intérieur du tube soit très exactement *noirci;* sinon, il en résulte des jeux de lumière parfois très désagréables et qui peuvent compliquer sérieusement l'observation. On s'assurera facilement de l'état du vernis mat intérieur, en mettant son œil sur une des

ouvertures du tube, de manière à la boucher hermétiquement, et en tournant l'autre orifice contre une lumière vive.

Les DISPOSITIFS POUR L'ÉCLAIRAGE ont aussi une grande importance. L'instrument doit être pourvu d'un *miroir* de grandes dimensions, à deux faces, l'une plane, l'autre concave, et destiné à éclairer les objets par *en bas* (*lumière transmise*). Il faut que les surfaces réfléchissantes soient soigneusement argentées; et surtout, qu'elles ne soient jamais recouvertes d'une couche de poussière, comme cela se voit trop souvent, même chez des observateurs de mérite. Le miroir sera monté sur une genouillère permettant de lui donner toutes les positions et toutes les inclinaisons

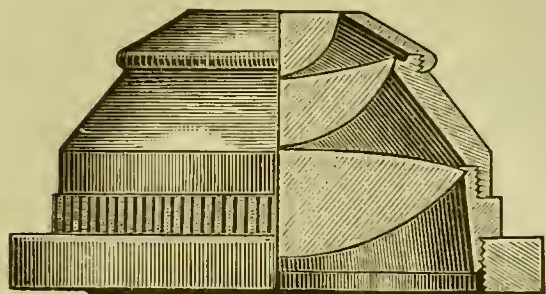


Fig. 36. CONDENSATEUR D'ABBE A 3 LENTILLES (de Zulauf & C°, à Zurich).

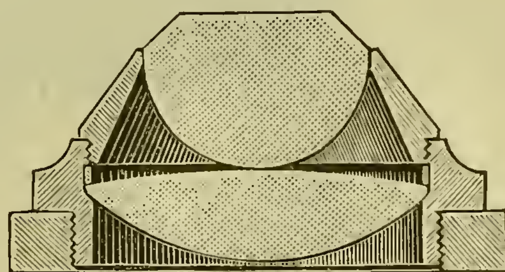


Fig. 37. CONDENSATEUR D'ABBE A 2 LENTILLES (de Zulauf & C°, à Zurich).

possibles, afin d'obtenir, aisément et à volonté, un éclairage central ou très oblique.

L'usage de l'éclairage très oblique avec le miroir est devenu moins courant depuis qu'on peut obtenir des effets lumineux semblables, même avec les plus forts grossissements, au moyen de l'appareil d'Abbe (fig. 36, 37 et 38).

Tout microscope moderne est pourvu de cet appareil dont l'usage est devenu indispensable. Son maniement s'est beaucoup simplifié depuis que son mécanisme a été perfectionné par l'introduction du diaphragme-iris (fig. 39), de vis et de crémaillères mieux comprises et permettant un réglage pour ainsi dire instantané des rayons lumineux (fig. 38).

On peut éclairer aussi les objets *par en haut* (*lumière tombante*), au moyen d'une *lentille* que l'on fixe, soit sur un support

spécial, soit au microscope lui-même. Le *miroir de Lieberkühn*, anciennement très en vogue, était destiné au même usage. Applicable seulement aux faibles grossissements, il se vissait au nez

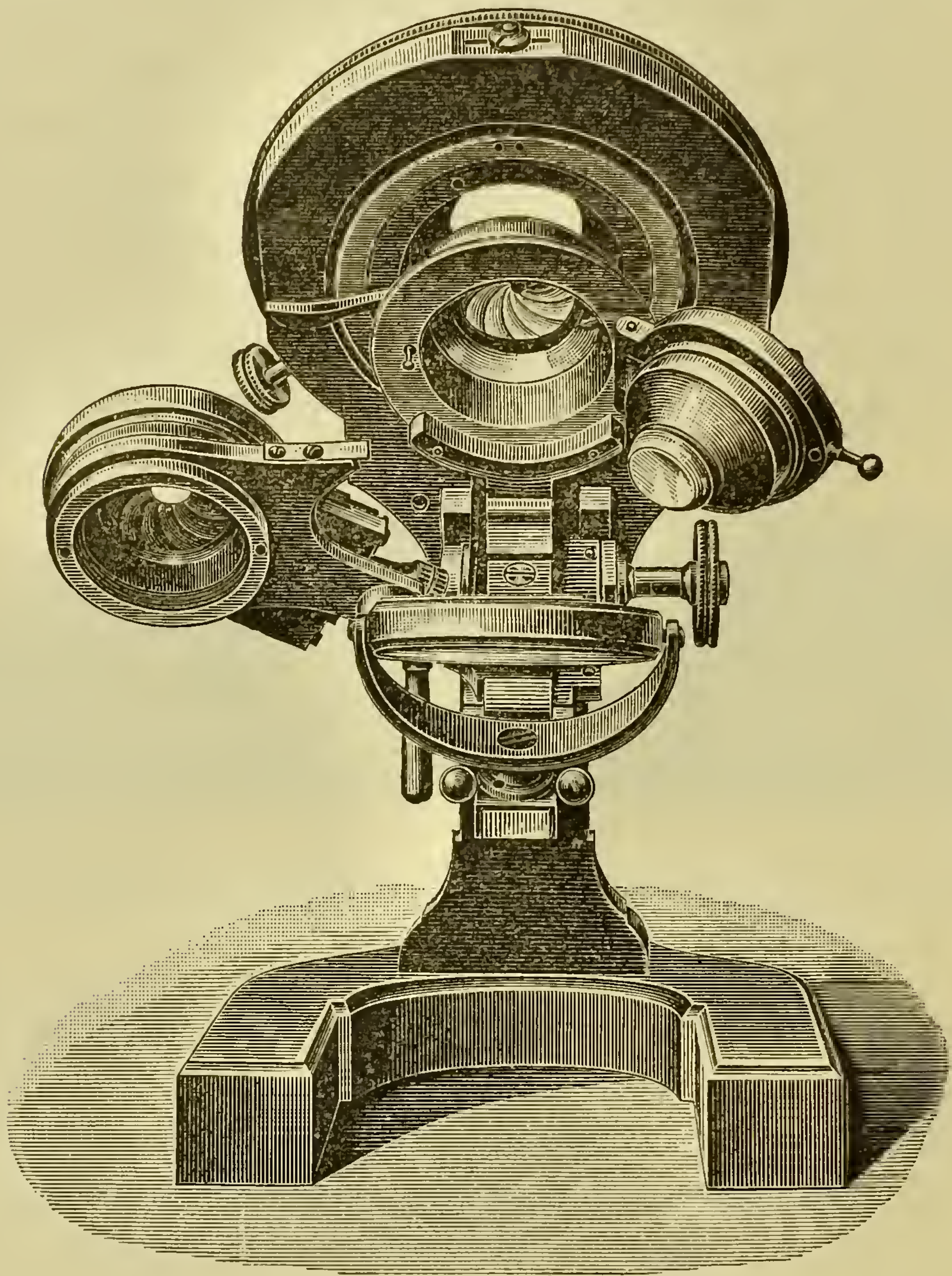


Fig. 38. SUB-STAGE, AVEC APPAREIL D'ÉCLAIRAGE D'ABBE, condensateur à charnière, diaphragme-iris à cylindre (de Leitz, à Wetzlar).

du microscope, de façon à concentrer les rayons lumineux sur la face supérieure de la préparation microscopique (fig. 40).

Pour RÉGLER LA LUMIÈRE venant du miroir, divers systèmes de *diaphragmes* sont actuellement en usage. Ils varient suivant l'importance de l'instrument. Dans les microscopes petit modèle,

c'est une plaque ronde, percée de *trous* de différentes grandeurs et fixée sous la platine; en tournant sur un pivot, cette plaque présente successivement, dans l'ouverture centrale de la platine, des trous de plus en plus petits, qui interceptent et centrent de plus en plus la lumière. D'autres fois, ce sont des pièces de métal, percées de trous de grandeur variable et qui s'ajustent dans un tube glissant à frottement doux dans un *tiroir* placé sous la platine. Dans ce dernier cas, il est bon d'avoir un appareil particulier, mû par une vis à crémaillère, et qui permette la centration exacte des diaphragmes. Enfin le diaphragme peut faire partie lui-même d'un appareil d'éclairage plus complexe. Un grand progrès pratique a été réalisé ces dernières années, en combinant en un seul appareil, monté sur crémaillère et avec

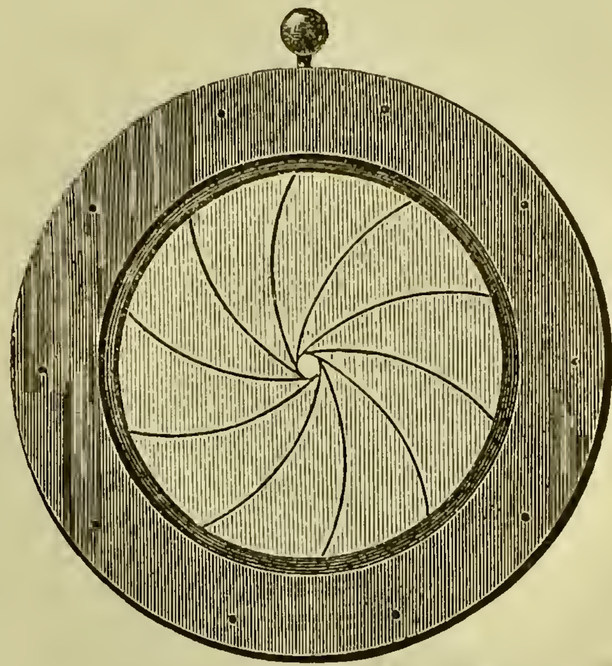


Fig. 39. Diaphragme-iris des microscopes de Zulauf & C°, à Zurich.

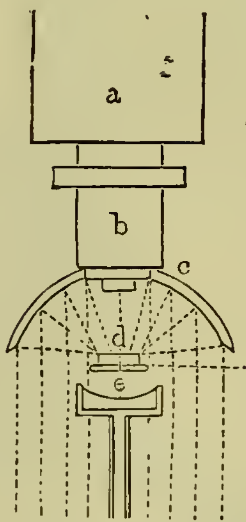


Fig. 40. Miroir de Lieberkühn.

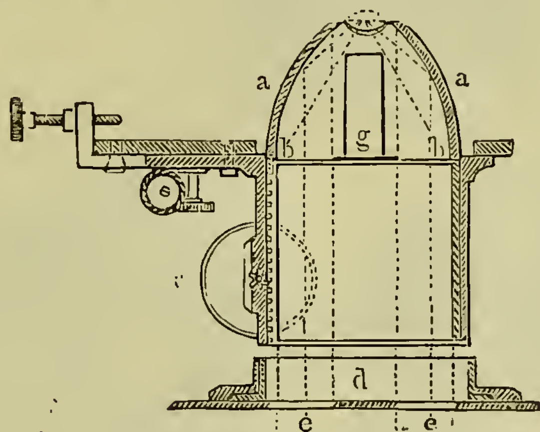


Fig. 41. Parabaloïde de Wenham.

pièces interchangeables, les systèmes de diaphragmes et l'appareil d'Abbe (fig. 38). Le trou du diaphragme doit être aussi près que possible de l'objet à observer. Cela a engagé plusieurs constructeurs à introduire l'usage de diaphragmes iris (fig. 38) ou tournants convexes et engagés dans la platine du microscope.

Afin d'obtenir un éclairage varié, on a construit des pièces spéciales qui s'ajustent sous la platine (dans le sub-stage), entre le miroir et la préparation. Ce sont plus particulièrement : le *paraboloïde de Wenham* (fig. 41), peu employé maintenant, et divers *condensateurs*, entre autres celui de Dujardin et, surtout, celui *d'Abbe* (fig. 38). Ce dernier a été accueilli partout avec une grande faveur ; nous ne saurions trop le recommander, à cause de sa grande commodité. Le jeune micrographe devra se familiariser

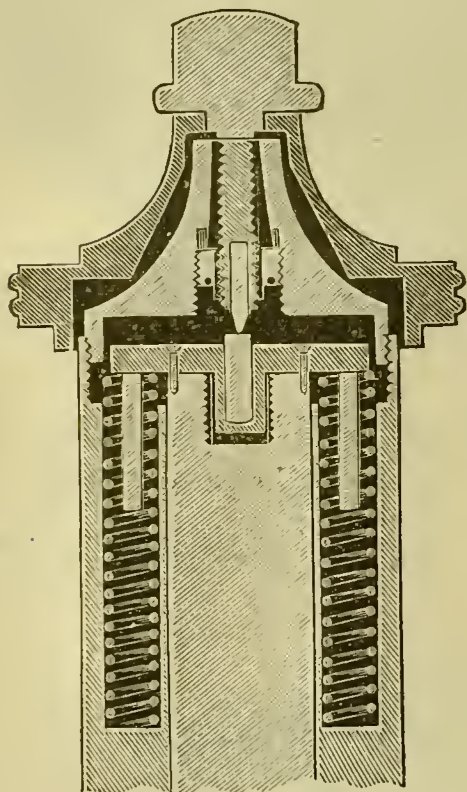


Fig. 42. Vis micrométrique (de C. Reichert, à Vienne). Vue intérieure du mécanisme.

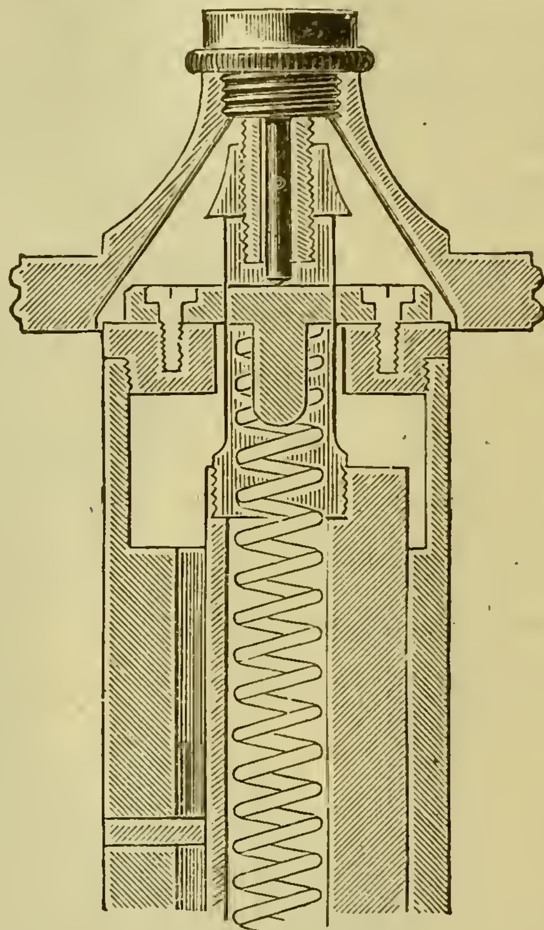


Fig. 43. Vis micrométrique (de Leitz, à Wetzlar). Vue intérieure du mécanisme.

entièrement avec la théorie exacte de son maniement, qui repose sur des conceptions optiques assez compliquées.

Passons à la mise au point. Dans les microscopes élémentaires, elle est obtenue au moyen du *glissement à frottement doux* du tube dans la douille ; ou bien au moyen d'une *crémaillère* (microscopes fig. 25, 31 et 105). Ces dispositions sont insuffisantes pour une observation délicate. Il faut à tout bon instrument une *vis micrométrique* construite avec précision (fig. 42 et 43). Le plus souvent on combine celle-ci avec un des moyens précédents ; ce qui augmente encore la commodité. Actuellement les grands

modèles de microscope sont tous pourvus d'une crémaillère, d'un tube à tirage muni de graduations et d'une vis micrométrique

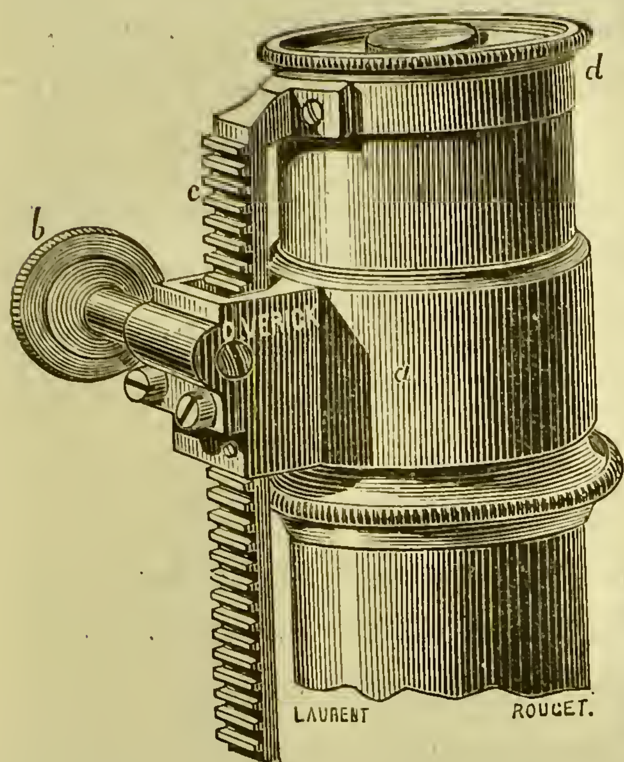


Fig. 44. Oculaire a crémaillère pour la mise au point de Ranvier (Stiassnie, succ. de Vérick, constructeur).

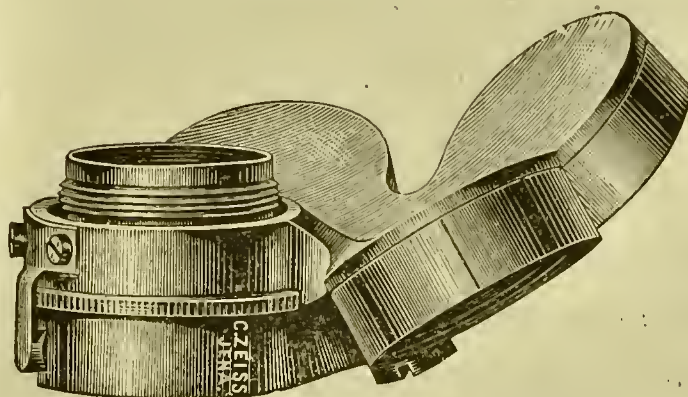


Fig. 45. Revolver pour 3 objectifs (de Zeiss à Jéna).

également graduée. Il est possible aussi d'exécuter la mise au point avec le secours de l'oculaire à crémaillère, imaginé par M. Ranvier et construit par Vérick (fig. 44).

Revolver à objectifs. Ajoutons que, pour faciliter le maniement rapide des différents grossissements, on a utilisé dans ces dernières

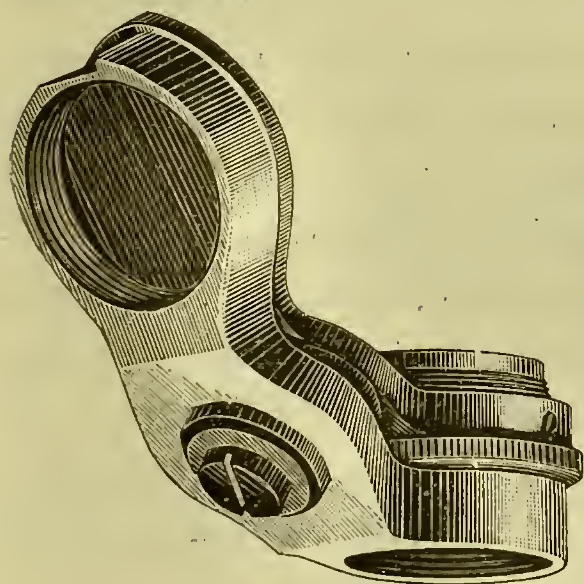


Fig. 46. Revolver pour 2 objectifs (de Zulauf & Co, à Zurich).

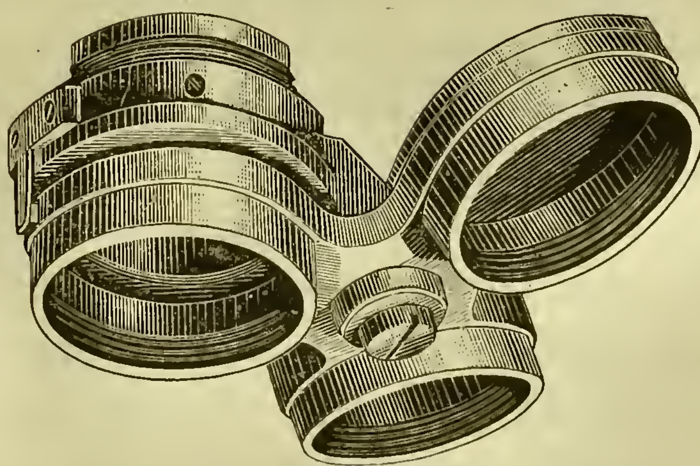


Fig. 47. Revolver pour 3 objectifs (de Zulauf & Co, à Zurich).

années différents mécanismes : le *revolver à objectifs*, par exemple (fig. 25, 45, 46, 47). On croit communément que le revolver

est d'invention moderne. Nous possédons dans notre collection un microscope du temps de Hartsœcker et porteur d'un revolver avec trois objectifs simples. — La maison Thury et Amey, à Genève, livre un mécanisme très parfait, inventé par M. Thury père, professeur à l'Université, qui permet, au moyen de pièces intermédiaires et interchangeables très simples, de varier instantanément un nombre indéterminé d'objectifs, tout en leur donnant une centration très suffisante. Ce mécanisme, que nous employons pour un de nos microscopes, nous semble à certains égards supérieur au revolver.

Il ressort nettement de ce que nous venons de dire qu'il y a tout avantage à faire d'emblée l'acquisition d'une *bonne monture* de microscope, capable de porter convenablement tous les accessoires qu'on voudra y fixer ultérieurement; en des choses semblables, tout ce qui est médiocre est mauvais.

Les **systèmes de lentilles** méritent aussi de fixer spécialement notre attention. Nous avons à passer en revue les *objectifs* et les *oculaires*.

Les OBJECTIFS, ainsi nommés parce qu'ils se vissent au tube microscopique du côté de l'*objet à observer,* sont généralement formés, sauf pour les plus faibles grossissements, de trois groupes de lentilles combinées (fig. 48), et réunies les unes aux autres, au moyen de pièces métalliques à vis (fig. 25). Leur construction est arrivée actuellement à un grand degré de perfection. Ils constituent une des pièces capitales du microscope. Chaque instrument, pour être complet, doit posséder plusieurs (au moins deux) de ces lentilles. Les anciens microscopes avaient des objectifs qu'on pouvait démonter, de manière à varier les grossissements. Cet agencement est à rejeter, à très peu d'exceptions près; car des objectifs semblables ne peuvent, par leur principe de construction même, être que de qualité inférieure.

Des connaissances précises des *règles de l'optique* sont absolument indispensables au micrographe pour juger en connaissance

de cause de leur valeur (fig. 49). Nous n'entrerons pas dans des détails circonstanciés à ce sujet, supposant les lois générales de la physique connues. Celui qui ne les aurait pas présentes à la

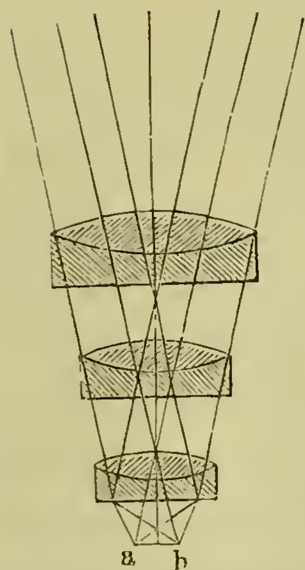


Fig. 48. Composition optique et marche des rayons dans un objectif ordinaire (dessin schématique).

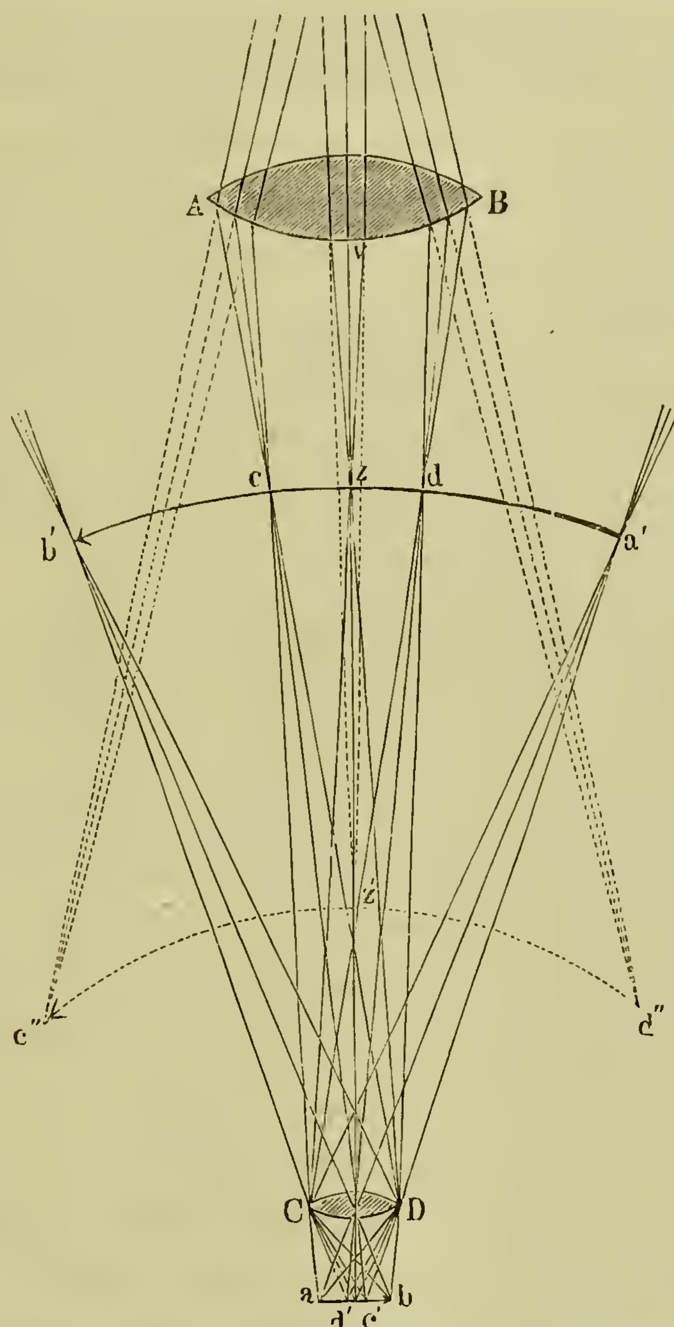


Fig. 49. Marche théorique des rayons lumineux dans un microscope composé.
C D Objectif supposé comme une lentille simple.
A B Oculaire supposé comme une lentille simple.
a' b' Image réelle de l'objet *a b*, fournie par l'objectif.
c'' d'' Image virtuelle, fournie par l'oculaire.

mémoire, fera bien de les rechercher dans les traités spéciaux.

Nous nous contenterons de donner ici un aperçu des principales qualités d'un bon objectif, tout en définissant d'une façon précise la signification de certains termes devenus d'un usage courant en micrographie.

La première condition est la *bonté de l'image,* soit au point de vue de l'*intensité lumineuse,* soit au point de vue de la *netteté* générale des contours. Cette netteté dépend de différents facteurs : principalement d'une *correction* bien faite de l'*achromatisme* et des *aberrations de sphéricité* longitudinale et latérale. C'est pour parfaire à ces exigences, que les objectifs courants sont formés de plusieurs séries de lentilles, combinées chacune de *flint* et de *crown-glass* et accolés ensemble au moyen de baume du Canada. Les objectifs du continent sont corrigés *par excès,* ce qui confère aux objets observés une teinte *bleuâtre;* ceux d'Angleterre sont corrigés *par défaut,* ce qui leur donne une teinte *jaunâtre.* Les premiers conviennent mieux à l'observation de jour, les seconds à celle de nuit.

Depuis que la maison Schott & C°, à Jéna, a livré des séries nouvelles de verres ayant chacun des qualités optiques spéciales et souvent bien différentes de celles du *crown* et du *flint-glass* classiques, la construction des lentilles a subi une révolution complète. Les constructeurs ont livré, sous les noms divers d'*apochromates,* de *semi-apochromates,* etc., des séries nouvelles de lentilles, dont la correction optique dépasse de beaucoup celle des lentilles courantes. Chez ces dernières, la correction porte uniquement sur le spectre primaire: chez les premières, elle intéresse non seulement les spectres primaires, mais aussi les spectres secondaire et tertiaire. Ceci approprie tout particulièrement les nouvelles lentilles au travail *microphotographique,* tout en les rendant très commodes pour l'observation courante. Malheureusement, quoique leur prix primitif ait diminué, elles sont encore trop coûteuses pour devenir d'un emploi tout à fait courant. Espérons que, malgré leur construction plus complexe, elles deviendront par la suite d'un prix plus abordable.

Chaque objectif présente à considérer : le *grossissement,* la *distance focale,* la *distance frontale,* l'*angle d'ouverture,* ainsi que les *puissances de pénétration, de définition et de résolution.*

Le *grossissement* est moins grand qu'on ne le suppose d'ordinaire. Dans les objectifs ordinaires, comme chez les apochro-

mates, c'est par l'oculaire que se fait surtout l'amplification. Les chiffres du grossissement fournis par les catalogues des constructeurs sont très souvent entachés d'erreur. — Pour le commençant une série d'objectifs, donnant, avec des oculaires moyens, une amplification nette de 40 à 600 ou 700 diamètres, sera plus que suffisante.

La *distance focale* est une donnée purement *théorique*. C'est la longueur du foyer qu'aurait une lentille simple, capable de donner le même grossissement que les lentilles combinées de l'objectif. Elle ne correspond donc à rien d'*apparent*.

La *distance frontale,* par contre, consiste dans l'intervalle réel qu'il y a entre la lentille *frontale* de l'objectif et l'objet en observation ; cette donnée a une importance pratique : la distance frontale doit être assez grande pour permettre facilement l'interposition, entre l'objet et la lentille, d'une lamelle ayant certaine épaisseur.

L'*angle d'ouverture* est l'angle extrême que font entre eux les rayons *utilisés* pour former l'image microscopique, et qui ne sont par conséquent, *pas interceptés* par les diaphragmes du système optique. Il est donc, en pratique, toujours plus petit que l'angle total d'ouverture qu'aurait la lentille frontale de l'objectif prise isolément. La *luminosité* et la *netteté des contours et des reliefs* dépendent en grande partie de l'angle d'ouverture.

La *puissance de pénétration* est la propriété qu'a une lentille de fournir simultanément l'image d'objets qui ne sont pas absolument *au foyer optique*. Une lentille à pouvoir pénétrant permet donc de voir jusqu'à une certaine *profondeur;* par conséquent, dans l'épaisseur même des objets doués d'une certaine transparence.

Le *pouvoir définissant* est la qualité qu'a un objectif de donner une image nette du *contour* des objets placés exactement à son foyer. Les objectifs à pouvoir définissant parfait donnent l'image précise d'un *seul plan* et n'ont, pour ainsi dire, point de pouvoir pénétrant, point de profondeur : ces deux qualités s'excluant l'une l'autre, ne peuvent donc pas *coexister complètement* dans un même système de lentilles. Plus l'angle d'ouverture d'un objectif

est grand et moins il y a de pouvoir pénétrant; l'image venant, dans ce cas, d'un foyer de plus en plus exact, de plus en plus punctiforme. Et vice-versa.

Le *pouvoir résolvant* est la propriété qu'a un objectif de faire voir des *détails fins* (stries, ponctuations, etc.) et de donner la sensation *du relief* des objets. Il est en relation directe avec la grandeur de l'angle d'ouverture.

Pour déterminer les qualités d'un objectif, on se sert de *test-objets* naturels (diatomées, écailles de papillon, etc.) ou artificiels (plaques de verre avec des stries très fines), Le maniement des test-objets demande une grande habitude.

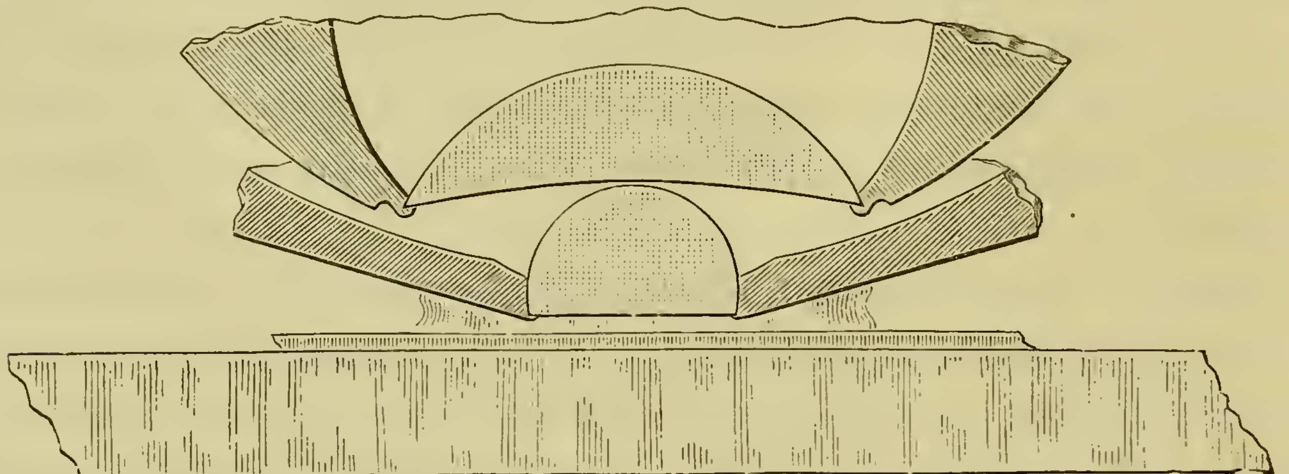


Fig. 51. DESSIN MONTRANT UN OBJECTIF APOCHROMATIQUE, A IMMERSION HOMOGÈNE, de Zeiss, mis en place sur la préparation avec la goutte de liquide.

Ces principes généraux étant posés, disons que pour les études anatomiques qui nous occupent plus particulièrement ici, *tout bon objectif doit joindre à une bonne pénétration une puissance de définition suffisante;* c'est-à-dire qu'il faut que l'angle d'ouverture soit grand, mais non exagéré, et que l'aberration de sphéricité et l'achromatisme soient bien corrigés. Il faut se méfier tout particulièrement de certaines lentilles, véritables *merveilles* d'optique, en leur genre, qui résolvent admirablement certains test-objets; mais qui, dans la pratique courante, sont parfaitement insuffisantes. Nous avons en vue surtout les objectifs ayant un grand pouvoir *séparateur* (de résolution), qui ont facilement ce défaut. Dans ces cas-là, les pouvoirs définissant et pénétrant sont toujours considérablement diminués.

Ajoutons que le couvre-objet (lamelle) joue un rôle important

dans la marche des rayons lumineux. De là, la nécessité de son emploi dans toute bonne observation, surtout si l'on applique de forts grossissements (fig. 50). Sans lui, l'objectif ne fournirait pas tous ses résultats optiques. Souvent même, il faut des lamelles d'une épaisseur déterminée. Cette exigence a rendu nécessaire la construction d'objectifs simples ou à immersion pourvus d'un mécanisme de *correction* spécial.

La maison Zeiss a construit, sous le nom de *objectif* a*, une lentille, qui, au moyen d'un mécanisme intérieur à vis, très ingénieux, permet de faire varier instantanément le grossissement

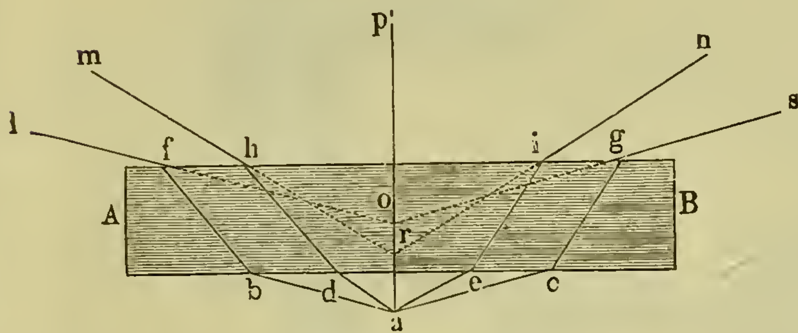


Fig. 50. Marche théorique des rayons lumineux dans un couvre-objet et venant d'un point *a* de la préparation (dessin schématique).

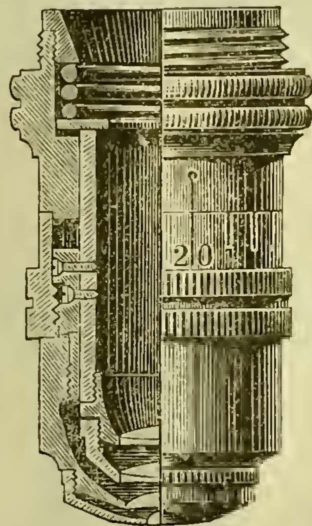


Fig. 52. Objectif a* de Zeiss, à changement de foyers facultatif.

du simple au double environ, pour le même oculaire, et de 4—30 fois, en changeant d'oculaire (fig. 52).

Objectifs a immersion et a correction (fig. 51). Ils permettent d'atteindre, avec une grande perfection, des *grossissements très forts*. Les recherches bactériologiques les ont mis, dans ces derniers temps, fort en vogue.

La *correction* a été également appliquée aux objectifs ordinaires (à sec) et à immersion. Elle sert à compenser les jeux de lumière amenés par l'usage de couvre-objets d'épaisseur variable.

Les *objectifs à immersion* diffèrent des objectifs ordinaires, en ce qu'ils nécessitent l'interposition d'une goutte de *liquide* entre l'objet à étudier et la lentille frontale. Le liquide employé varie beaucoup. Pendant longtemps on appliquait surtout de l'eau

distillée ; maintenant on utilise des huiles, des essences (fig. 53) ou des solutions salines variables et à indice de réfraction élevé. L'usage de ces derniers corps, qui ont tous un *indice de réfraction très voisin de celui du verre,* permet de supprimer la correction. De là, les objectifs à *immersion homogène,* dont la construction, surtout depuis la découverte des nouveaux verres, est devenue très parfaite.

Une erreur très répandue consiste à croire qu'il suffit, en fait d'objectifs à sec, d'acheter les numéros les plus élevés du cata-

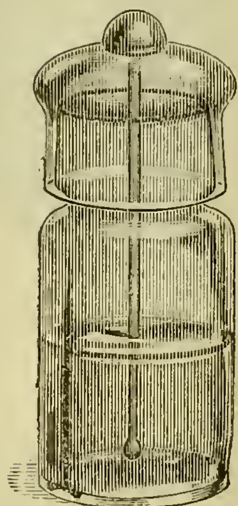


Fig. 53. Flacon huile de cèdre, pour immersion (de Zeiss). 1/2 grandeur.

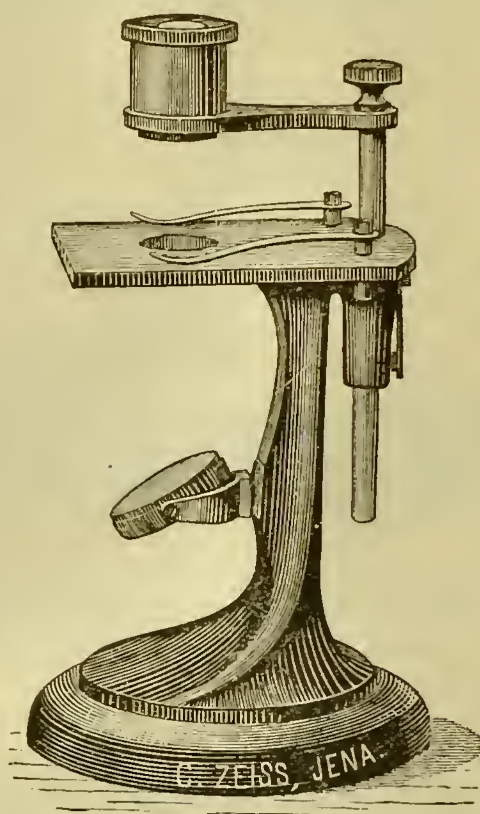


Fig. 54. Petite loupe montée (de Zeiss, à Jéna).

logue, pour remplacer les objectifs à immersion donnant des grossissements équivalents. Sur le papier cela peut paraître exact ; mais en pratique il en est tout autrement. Il suffit d'ailleurs d'un peu de réflexion pour comprendre que les constructeurs ne se seraient pas acharnés à construire à grands frais des objectifs à immersion nouveaux, si les objectifs à sec eussent rempli vraiment le but.

Les forts objectifs à sec reposent donc sur une erreur de construction évidente.

Passons à l'oculaire ou *verre de l'œil.* Il a reçu ce nom à cause de sa position voisine de l'œil quand on observe. Chaque

microscope doit être pourvu de plusieurs oculaires (au moins deux), ayant une *distance focale* et un *grossissement* différents.

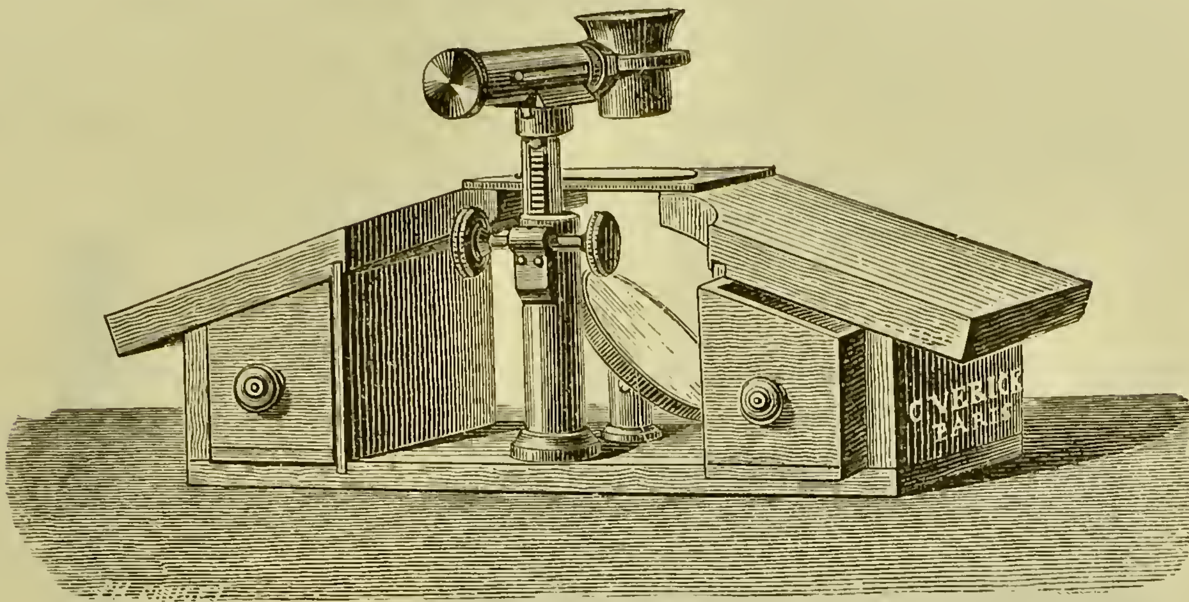


Fig. 55. MICROSCOPE DE DISSECTION (de Stiassnie, succ. de Vérick, Paris).

L'oculaire est destiné à *amplifier* l'image fournie par l'objectif et à *corriger* et *compenser*, en même temps, certains défauts

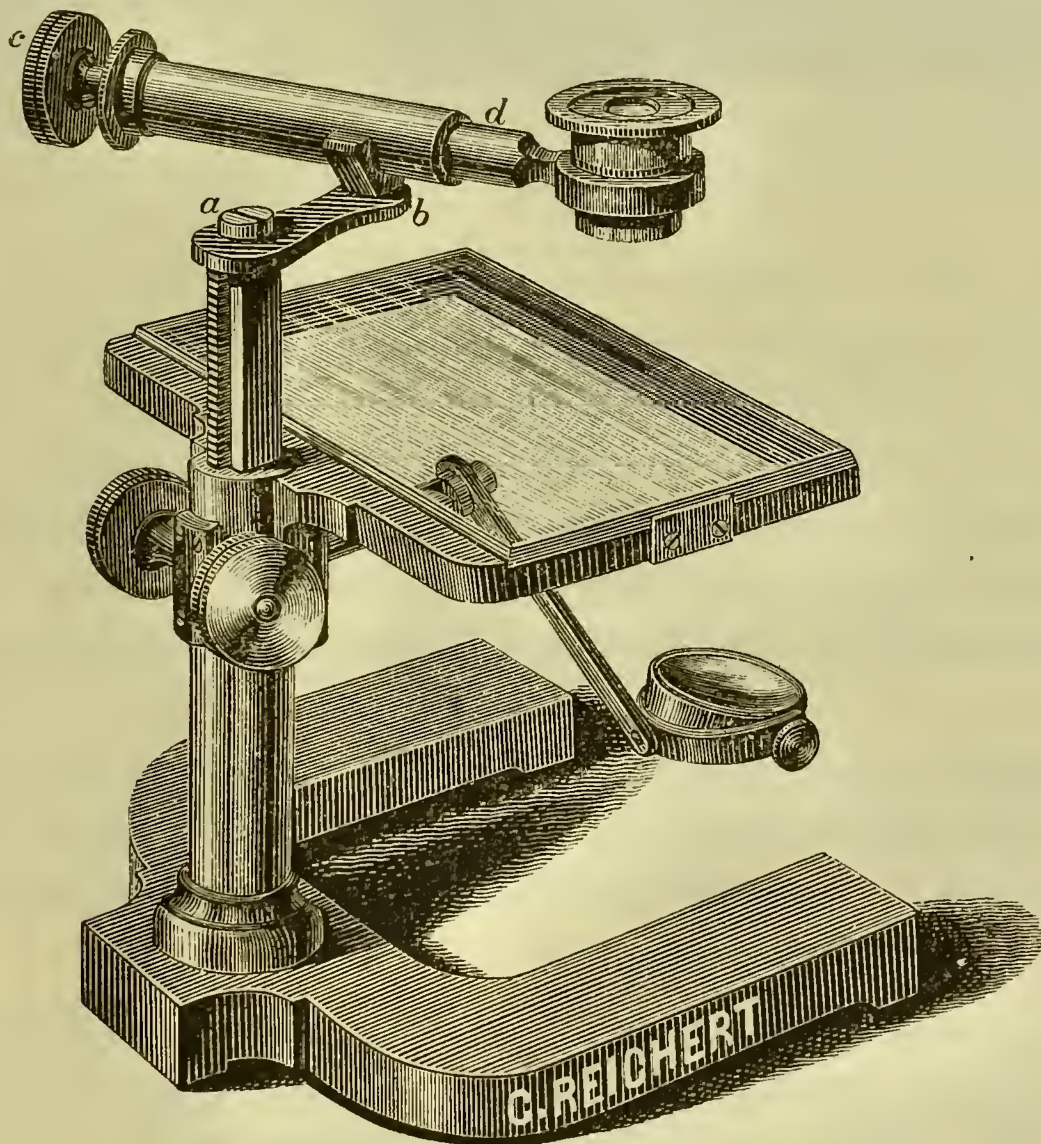


Fig. 56. GRANDE LOUPE MONTÉE (de C. Reichert, à Vienne).

optiques de l'objectif. C'est donc également une portion très importante de microscope, qui s'ajuste, à frottements très doux, dans la partie supérieure du tube microscopique. Chaque oculaire est formé de *deux lentilles* plan-convexes et d'un *diaphragme* interposé entre deux. Comme nous l'avons déjà dit, l'amplification se fait surtout par l'oculaire dans notre *microscope composé*

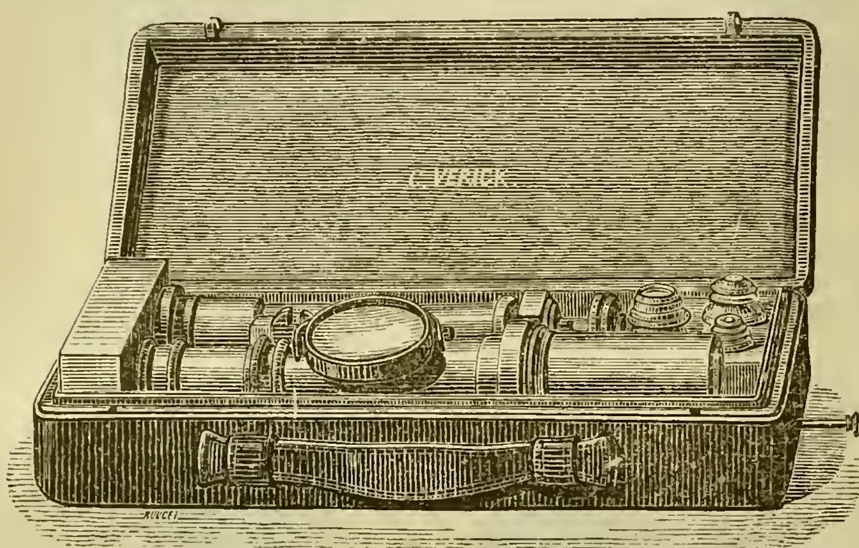


Fig. 57. Microscope de voyage (de Stiassnie, succ. de Vérick), (voir fig. 58) dans son étui.

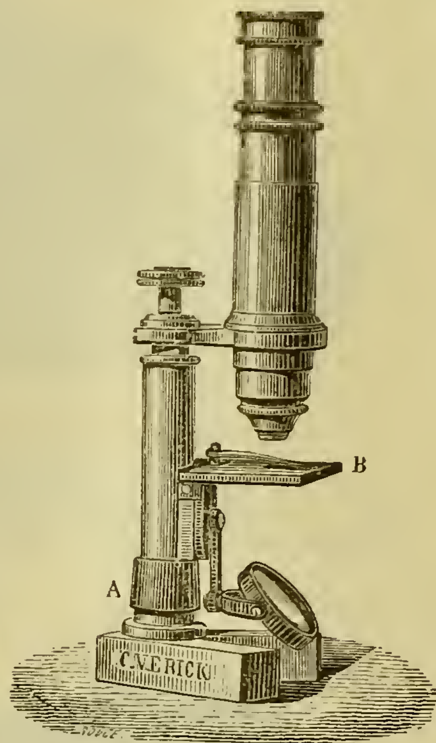


Fig. 58. Microscope de voyage (voir fig. 57) hors de son étui.

ordinaire. Dans la pratique courante, il y a tout avantage, sauf dans quelques cas très exceptionnels, à se servir d'oculaires *faibles*, parce qu'ils fatiguent moins la vue. Ces règles ne s'appliquent qu'en partie aux nouveaux *oculaires apochromatiques*, lesquels jouent un rôle capital dans l'amplification de l'image.

L'*appareil binoculaire*, très employé en Angleterre, fournit des images avec un relief étonnant. On en a construit de plusieurs sortes.

Microscope de dissection (fig. 54, 55 et 56) ou *loupe montée*. Il est d'une grande commodité pour certains petits *travaux anatomiques fins* (dissociation, etc.), ainsi que pour l'*observation topographique* d'objets étendus.

Microscope de voyage (fig. 57 et 58). Il permet de réduire, sous un très *petit volume*, un instrument assez complet. Chaque constructeur, chaque savant a son modèle préféré.

RÉACTIFS UTILISÉS EN MICROSCOPIE

Leur nombre s'est accru d'une manière vraiment colossale dans ces dernières années. Mais on peut dire, sans exagération, que beaucoup d'entre eux créent un double emploi et sont loin d'avoir l'importance que voudraient leur donner leurs inventeurs.

Il y a donc lieu de faire ici un choix judicieux, et de revenir à une *simplicité* que cette abondance de richesse fait trop facilement oublier. *On peut faire d'excellentes études microscopiques avec un nombre restreint de réactifs.* Cette simplicité est indispensable au commençant, qu'il se propose de devenir naturaliste ou médecin; elle est particulièrement importante pour le médecin, qui le plus souvent n'a ni la facilité, ni le loisir de se livrer à des recherches compliquées et, d'ailleurs, le plus souvent inutiles pour poser un bon diagnostic.

Pour contrôler les principaux résultats de la science, les réactifs suivants nous paraissent parfaitement suffisants :

Eau distillée. Employée pour faire des solutions *titrées* et pour faire des *relavages* de préparations, quand on veut, par exemple, enlever un excès de réactif. Pour les usages ordinaires, on la tiendra à la portée de sa main dans une *pissette* de laboratoire. Dans le plus grand nombre de cas, au reste, l'eau ordinaire ou de pluie remplira le but. A Genève, l'eau du lac est assez pure pour être employée, dans la majorité des cas, au lieu d'eau distillée.

Alcool. C'est par excellence le réactif de *fixation* et de *conservation* des pièces à étudier. On en aura également à côté de soi dans une pissette. L'*alcool absolu* sert à deshydrater les

préparations microscopiques et à diluer certaines résines. On peut préparer soi-même de l'excellent alcool absolu, titrant 97 à 99° centésimaux, en mettant dans un flacon bien bouché du bon alcool du commerce avec du sulfate de cuivre, que l'on a grillé jusqu'à ce qu'il ait pris l'aspect d'une poudre farineuse et blanche.

Formol. On achètera le produit concentré qu'il faudra ensuite diluer à différents degrés avec de l'eau.

Ether sulfurique anglais et chloroforme. Servent comme dissolvants des graisses et des résines.

Térébenthine rectifiée. Mêmes usages.

Acides *(sulfurique anglais, nitrique, chlorhydrique, acétique glacial, formique pur, picrique, chromique, osmique,* etc.). On en fera des *dilutions* et *solutions titrées*, qu'on pourra ensuite étendre suivant les besoins. On emploie ces solutions, simples ou combinées, soit pour le *durcissement* des pièces, soit pour débarrasser celles-ci de leurs sels, tels que la chaux *(décalcification),* soit encore pour obtenir des *réactions* spéciales.

Alcalis *(potasse* et *soude caustique, ammoniaque)*. On préparera les solutions de travail au fur et à mesure des besoins ; car elles *s'altèrent* avec facilité. On emploie les alcalis pour *neutraliser* l'action des acides, ou bien pour *macérer* à froid ou à chaud et dissocier les objets.

Sels. Leurs solutions, à différents titres, servent comme *liquides additionnels* et comme moyens *durcissants*, et même de *conservation*. Les sels les plus employés en micrographie sont : le *chlorure de sodium*, le *bichromate de potasse*, le *bichromate d'ammoniaque*, l'*azotate d'argent*, le *bichlorure de mercure*, le *chlorure d'or*, le *sulfate de soude*, etc., etc.

Iode. En cristaux. Sert à préparer des *solutions* (alcoolique ou aqueuse).

Alun. En poudre. Utilisé pour la préparation de certaines matières *colorantes*, particulièrement de l'hématoxyline et du carmin à l'alun.

Matières colorantes. On les emploie en solutions diverses. Ce sont : la *cochenille,* le *carmin* pur, l'*hématoxyline*, le *bleu de Prusse soluble,* la *safranine,* ainsi qu'une grande quantité de *sels d'aniline,* etc., etc. C'est surtout de réactifs colorants que l'on a, selon nous, trop embarrassé la technique microscopique; avec un nombre restreint de ces substances, on atteint généralement son but.

Résines. Ce sont : le *baume du Canada,* la *résine d'Ammar,* le *styrax,* etc. On peut les dissoudre et les diluer, suivant le cas, avec de l'éther, du chloroforme, de la térébenthine, du xylol, du toluol, etc. Il ne faut employer que des résines rectifiées et de la plus grande pureté.

Gélatine de Paris. Doit être de qualité extra. Employée pour les *injections* et certains *enrobages*.

Gomme arabique. En poudre. Outre les usages ordinaires, au lieu de colle, elle sert à faire *consolider* certains objets à couper.

Essences diverses. De *térébenthine,* de *girofles,* d'*oryganum,* de *lavande*, etc.; *benzine, toluol, xylol; créosote,* etc. Employées après *deshydratation* à l'alcool.

Bitume de Judée, vernis, cire à cacheter, ambre, etc. Servant à *luter* les préparations, pour qu'elles se conservent mieux.

Paraffine. Ce produit est employé parfois pour faire des cadres provisoires, mais surtout pour les imprégnations et les enrobages. Il est nécessaire d'en avoir un assortiment d'échantillons fondant à des températures différentes.

Tous ces produits devront être conservés dans des flacons fermant bien, maintenus soigneusement à l'abri de la poussière et *étiquetés,* pour éviter toute confusion.

SOLUTIONS LES PLUS USUELLES

Elles doivent toujours être rigoureusement *titrées* et bien *étiquetées*. On fera des *solutions-mères* qu'on *diluera* ensuite, suivant les besoins journaliers. Il faudra n'employer que des substances *chimiquement pures* et éviter avec le plus grand soin de les *mélanger* ou de les *souiller* involontairement. Sans une propreté des plus méticuleuses, tout travail rigoureux devient impossible. Certaines substances, destinées à la microscopie, doivent être préparées d'une manière *spéciale;* on fera bien de les acheter chez des fournisseurs *ad hoc,* et non pas chez le droguiste ou le pharmacien.

Il est important d'avoir un bon fournisseur pour tous ces produits chimiques. Il ne suffit pas toujours de s'adresser au premier pharmacien ou droguiste venu de la localité, pour obtenir ce qui est indispensable en fait de qualité, même en payant fort cher.

Certaines maisons se sont faites une spécialité de la fourniture de produits pour micrographes. Parmi celles-ci, nous avons eu toujours à nous louer des fournitures faites par la maison Bender & Hobein à Zurich, qui livre au prix du catalogue pour toute la Suisse, avec la plus grande célérité et à bon marché, des substances de qualité irréprochable. La maison Hellige & Cie, à Bâle, fournit aussi, et dans les mêmes conditions, les mêmes produits.

Voici les *solutions* les plus courantes, qu'on fera bien de tenir prêtes d'avance :

1° Solution aqueuse de chlorure de sodium (7,5 ‰). Elle doit être fréquemment renouvelée; car il s'y développe très vite des algues ou des organismes inférieurs qui la souillent et qui changent son titre. Elle est très souvent utilisée comme *liquide*

additionnel, dans les examens à l'état vivant ou frais; elle fonctionne, dans ce cas, comme *sérum artificiel*, comme *solution physiologique normale*. Les éléments histologiques peuvent même s'y conserver en vie pendant plusieurs heures et même plusieurs jours. Cette solution est des plus précieuses, dans tous les *examens microscopiques rapides*. On peut, du reste, la remplacer par d'autres solutions analogues à titre fixe (sucre, sulfate et carbonate de soude, etc.), avec ou sans addition d'albumine.

2° SOLUTION AQUEUSE D'ACIDE CHROMIQUE (à 1 $^0/_0$ de concentration). Ainsi que les sels de chrome en général constitue un bon réactif *durcissant*. Diluée à 0,5 $^0/_0$ environ, elle conserve très bien les détails des *noyaux* cellulaires. Plus concentrée, elle donne de bons résultats dans la *décalcification* des os, etc. L'acide chromique est le roi des réactifs durcissants pour les nerfs et le système nerveux central; ainsi que pour les organes des sens. Pour bien réussir, avec ce produit, on prendra de grandes quantités de solution, on détaillera les objets en petits fragments et on les suspendra avec un fil au centre du local. Il faut changer souvent, et même tous les jours, le réactif, et, surtout, ne pas négliger de tenir les objets en préparation dans un lieu frais et à l'abri de la lumière. Sans cette précaution les pièces ne tardent pas à prendre un aspect *savonneux* et à devenir cassantes. Une fois le durcissement opéré, il faut retirer la préparation de la solution et soumettre à un *relavage prolongé* à l'eau ordinaire (si possible sous le filet d'un robinet d'eau courante), de manière à enlever tout l'excès d'acide; puis mettre dans de l'alcool plus ou moins concentré, suivant le résultat cherché. Le moindre excès d'acide entrave pour ainsi dire totalement l'action ultérieure des substances colorantes.

3° SOLUTION D'ACIDE PICRIQUE. Elle s'emploie généralement concentrée; il doit toujours rester des cristaux en excès au fond du flacon destiné à la contenir. C'est également une bonne substance pour *durcir* et *décalcifier*. Mêmes prescriptions que pour l'acide chromique. Il opère en général, moins bien et *moins vite* que ce dernier. Se souvenir que l'acide picrique est un explodin dangereux.

4° Solution de Kleinenberg *(liquide picro-sulfurique)*. Ce liquide fixant est devenu d'un emploi courant dans les recherches d'embryologie et d'anatomie comparée.

On le prépare en ajoutant à un mélange de 2 volumes d'acide sulfurique anglais concentré et de 100 grammes d'eau, de l'acide picrique en excès, jusqu'à saturation parfaite, puis en filtrant le tout. Ne jamais relaver à l'eau les pièces fixées par ce réactif; le relavage doit se faire au moyen d'alcool à 70 %.

Il faut, suivant la délicatesse des tissus à fixer, diluer plus ou moins la solution originale.

On allie également de différentes façons l'acide picrique à d'autres acides (nitrique, osmique, etc.).

5° Solutions de bichromate de potasse ou de bichromate de soude (2-5 %). Très recommandées pour le *durcissement* du système nerveux central. Mêmes précautions que ci-dessus.

6° Liquide de Müller. Un peu délaissé dans ces dernières années. C'est un bon réactif pour certains objets *délicats* (embryons, tissus épithéliaux, etc.). Sa composition n'est pas toujours indiquée d'une manière identique dans les traités. Voici une formule, qui nous a toujours donné de bons résultats:

Eau	100	grammes.
Bichromate de potasse	2 à 2 1/2	»
Sulfate de soude	1	»

Il faut procéder, avec ce réactif, qui conserve bien la forme topographique des objets, comme pour l'acide chromique. Le durcissement est *plus long*. En faisant durer son action *peu de temps*, on peut l'employer comme liquide *macérant*, pour favoriser la dissociation des éléments, particulièrement les épithéliums.

7° Liquide d'Erlicki. Fixant et durcissant mieux et plus rapidement que la solution de Müller. Voici sa composition :

Bichromate de potasse	2,5	grammes.
Sulfate de potasse	1,0	»
Eau	100,0	»

8° Solution d'acide osmique (1 %). Ce réactif précieux *fige*

instantanément les éléments cellulaires dans leur forme. Il colore les graisses en *noir* intense, en même temps qu'il leur donne une *consistance* solide. Si son action a été trop vive, sur un tissu, les matières colorantes (comme le carmin) n'agissent plus.

On doit le tenir à l'abri de la lumière et de la poussière; sans cette précaution il s'opère facilement une réduction, engendrant une poudre noire qui se dépose au fond du flacon.

Sa puissance de pénétration étant très limitée, il convient d'opérer sur de petits fragments.

On se sert souvent des *vapeurs* de la solution d'acide osmique comme fixateur des objets de petite dimension.

On a *combiné*, avec succès, l'acide osmique à d'autres réactifs; plus spécialement avec les acides sulfurique et chromique. L'action simultanée de ces substances est très favorable à la fixation des *noyaux* cellulaires.

Ajoutons que l'acide osmique est une substance malheureusement *très dangereuse* à manier. C'est un toxique puissant. Il faut surtout craindre l'irritation qu'il provoque sur les muqueuses de l'œil et des voies respiratoires.

9° Solution aqueuse de nitrate d'argent (1 %). C'est également un réactif *durcissant*. Mais on l'emploie plutôt pour faire des *imprégnations,* en utilisant la propriété qu'il possède de se réduire au contact des substances organiques, surtout des *ciments intercellulaires*. Son application demande une certaine habitude. Nous aurons souvent l'occasion d'y revenir dans le cours de nos explications (voir surtout *Tissu épithélial* et *Tissu conjonctif)*.

Les sels d'argent, combinés avec ceux de chrome, ont donné, dans les mains de Golgi et de R. Cajal, des résultats admirables pour l'étude du système nerveux.

10° Alcool au tiers (Ranvier). Très commode pour la *fixation et la macération simultanées* des tissus. Son application à l'étude du tissu épithélial donne des résultats très brillants. Il se compose de :

Eau	1 partie.
Alcool à 36° Cartier. . .	2 parties.

11° Alcool a 70 %. Composé d'alcool absolu, 30 volumes, et d'eau distillée, 100. On fait d'ordinaire la dilution au moyen de l'aéromètre centésimal, jusqu'à ce qu'elle titre 70°. Sert à faire des relavages, après l'emploi de la solution de Kleinenberg et de certains colorants.

12° Solution neutre aqueuse de carmin. Cette solution-mère concentrée servira à en préparer d'autres plus diluées; ainsi que les *masses* à injection. Le carmin est, sans conteste, le *roi des colorants* de l'histologie. Les teintes qu'il fournit sont des plus *durables;* elles résistent très bien à l'action de la lumière, ce qui est loin d'être le cas pour les autres matières colorantes. Dans tous les usages courants, on devra le préférer à tout autre réactif. Nous reviendrons là-dessus, plus loin *(Méthodes de coloration).*

13° Carmin a l'alun (de Grenacher). C'est aussi un *des meilleurs* moyens de coloration. Il est également très *durable.* Il a l'immense avantage de ne pas *surcolorer* trop facilement les préparations. Il donne lieu à des teintes variables suivant les éléments; en d'autres termes, il a une *vertu élective*, qui peut être d'un grand secours dans certains cas. On le prépare de la manière suivante. On fait bouillir longuement dans de l'eau ordinaire, un peu de carmin en poudre fine, et de première qualité, avec une pincée d'alun, de potasse ou d'ammoniaque; on laisse refroidir; puis l'on filtre. Le *résidu* peut, dans quelques cas, être bouilli à nouveau avec de l'eau et de l'alun; il peut ainsi fournir à son tour une nouvelle solution. Il faut ajouter à la solution un morceau de camphre ou de thymol, ou encore, ce qui est moins bon, une goutte d'acide phénique, car il s'y développe des *moisissures* avec la plus grande facilité.

14° Carmin boracique a l'alcool (de Grenacher). Très employé en embryologie, surtout après fixation par la solution de Kleinenberg et l'alcool à 70°.

On le prépare en faisant bouillir 2 à 3 gr. de carmin en poudre dans une solution aqueuse de borax à 4 %, on ajoute un volume égal d'alcool à 70°, on laisse reposer, puis l'on filtre. La coloration des objets a lieu *en masse,* c'est-à-dire avant de les débiter

en coupes; il y a *surcoloration;* on *décolore* ensuite avec de l'alcool à 70°, additionné d'acide chlorhydrique (3-6 gouttes pour 100 cc. d'alcool).

15° PICRO-CARMIN. On a donné beaucoup de formules pour la préparation de ce réactif.

Pour notre compte, voici comment nous procédons. Après avoir préparé une *solution de carmin* de première qualité, en broyant, dans un mortier, la poudre de carmin avec de l'eau pure et en ajoutant quelques gouttes d'ammoniaque, nous laissons, pendant quelques jours, la solution dans un flacon débouché. Alors, nous versons dedans, doucement et par petites portions, une *solution concentrée d'acide picrique,* en tenant nos flacons contre la lumière. Il arrive un moment où, en examinant par transparence notre solution carminée, nous constatons qu'elle se trouble légèrement; c'est le carmin qui commence à *précipiter,* le point de neutralisation ayant été légèrement dépassé. Nous ajoutons alors, avec une pipette, de l'*ammoniaque,* goutte à goutte, de cinq en cinq minutes et en ayant soin d'agiter chaque fois, jusqu'à ce que tout redevienne clair. Nous conservons le liquide neutre ainsi obtenu dans un flacon sans bouchon, ou bouché simplement avec un peu de papier, en l'abandonnant à lui-même. Il ne tarde pas à se *décomposer* peu à peu; il est alors utilisable. On n'a qu'à le filtrer avant de s'en servir. Plus la solution est *vieille* et meilleure elle est, en général; aussi y a-t-il avantage à en préparer une bonne *quantité* d'avance. Dans quelques cas rares, cependant, il s'établit des fermentations de mauvaise nature, qu'on s'efforcera d'arrêter par l'addition d'antiseptiques appropriés (phénol, camphre, thymol, etc.).

L'*acide carminique* et la *cochenille* fournissent également la base d'une foule de colorants précieux.

16° SOLUTIONS DE COULEURS D'ANILINE (*bleu de gentiane, brun de Bismark, violet de méthyle, acétate de rosaniline,* etc.). Ces solutions donnent, en général, de belles colorations des *noyaux* cellulaires; elles sont très précieuses pour l'histologie fine. Malheureusement, les teintes obtenues *pâlissent* facilement à la lumière. Quelques-unes jouent le rôle de véritables réactifs *spé-*

ciaux; le *violet de méthyle*, par exemple, est un excellent réactif pour la recherche des substances amyloïdes. Nous pouvons recommander, comme étant d'un maniement commode pour l'usage ordinaire : le *violet de méthyle,* le *bleu de gentiane* et le *brun de Bismark;* chacun, du reste, choisira, dans ce domaine, ce qui conviendra le mieux au but poursuivi.

17° Solutions d'hématoxyline. On en a proposé un grand nombre dont la formule varie. Voir plus loin (*De quelques colorations en particulier,* p. 74).

TROISIÈME PARTIE

MÉTHODES TECHNIQUES

Après avoir décrit le laboratoire d'Histologie, ses instruments et ses réactifs, nous devons maintenant insister sur les diverses méthodes spéciales de travail propres aux micrographes. On trouvera en outre, à la fin de cet ouvrage, un appendice sur les méthodes employées dans les recherches embryologiques.

MANIÈRE D'OBSERVER AU MICROSCOPE

La première chose, est de chercher un *bon éclairage,* par l'orientation exacte du miroir. Le commençant pourra s'exercer à faire cette opération avant de mettre des lentilles au tube microscopique. Ensuite, il vissera, sur *le nez* ou *le cône* du microscope, un objectif à faible grossissement; puis, après avoir remis le tube en place, il ajoutera également un oculaire faible, et il s'exercera à *mettre au point,* en faisant descendre lentement le tube, au moyen du mouvement rapide à glissement ou à crémaillère, jusqu'à ce qu'il entrevoie l'objet; enfin il fera mouvoir la vis micrométrique, pour achever la mise au point exacte.

Il faut, dès le début, se poser pour règle de commencer indistinctement toute observation avec un *faible grossissement,* de manière à obtenir d'abord une vue *topographique* d'ensemble

de la préparation. Alors seulement, on pourra recourir avec fruit à l'usage de lentilles plus puissantes : il y a, du reste, un grand avantage à travailler de préférence avec des objectifs et des oculaires faibles : on gagne en habileté et on se crée ainsi une sorte de réserve pour les observations plus délicates. *Ce ne sont que les microscopistes d'occasion qui recherchent, en tout temps et avec persistance, les forts grossissements.*

Il est important de noter que l'usage des oculaires forts ordinaires fatigue beaucoup la vue.

Il faut apprendre de suite à observer *indistinctement avec les*

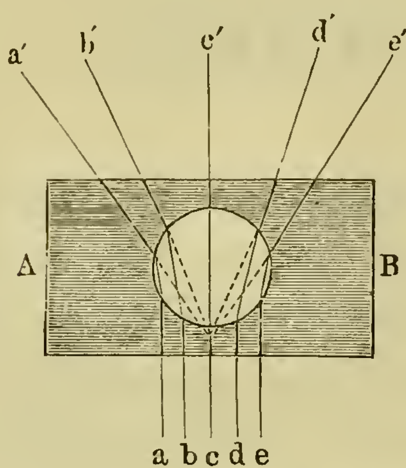


Fig. 59. Marche des rayons lumineux dans une bulle de gaz plongeant dans un liquide.

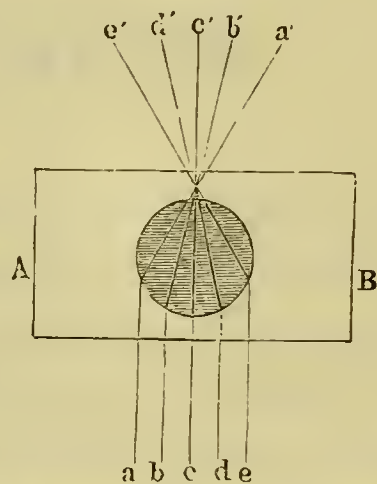


Fig. 60. Marche des rayons lumineux dans un gouttelette de graisse plongeant dans l'eau.

deux yeux, et laisser toujours *ouvert* l'œil qui ne regarde pas, pour le moment, dans le microscope.

Chaque préparation demande à être parcourue et étudiée *dans toutes ses parties* avec attention et méthode.

Une excellente manière de faire consiste *à dessiner,* avec soin et *sans parti pris,* ce que l'on voit (voir *introduction* et *méthodes de dessin*).

Il est également très bon de *noter à mesure et par écrit,* tout ce qu'on observe d'intéressant[1].

Nous considérons comme absolument indispensable de s'exercer à discerner avec sûreté les *bulles* de gaz (fig. 59), les *goutte-*

[1] Notre éditeur se propose, comme il l'a fait déjà pour la précédente édition, de tenir à disposition des amateurs un certain nombre d'exemplaires interfoliés avec du papier blanc, pour faciliter les étudiants désireux de dessiner et de prendre des notes.

lettes (fig. 60), les *granulations*, certains *cristaux*, ceux du chlorure de sodium entre autres (fig. 61), etc. De même, il faut pouvoir distinguer l'image fournie par une *granulation* de celle qui donne la section *transversale* d'une fibre. En d'autres termes,

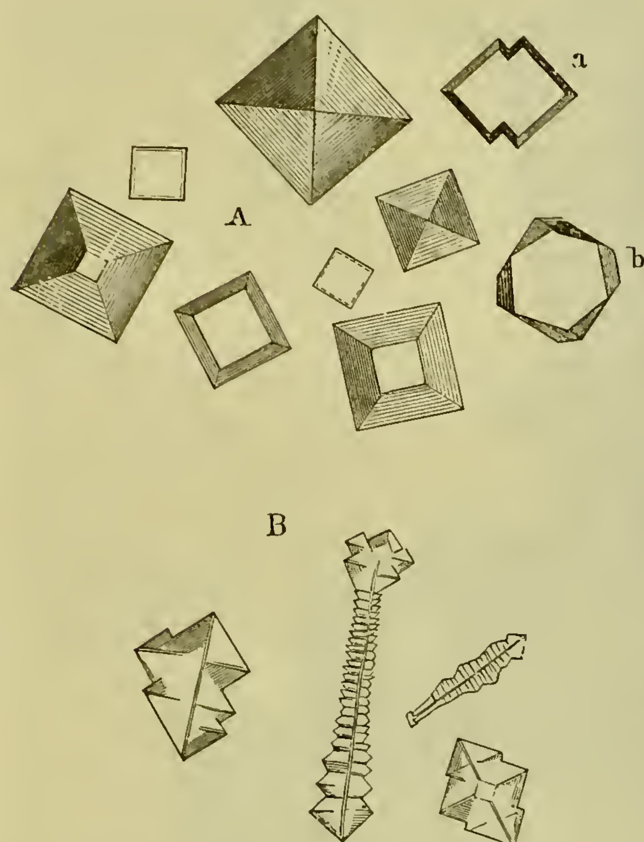


Fig. 61. Cristallisations de chlorure de sodium vues au microscope.

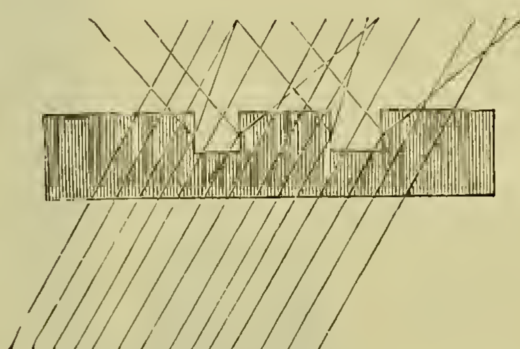


Fig. 62. Dessin schématique destiné à faire comprendre la marche des rayons lumineux dans les objets de forme irrégulière. Certains rayons sont réfractés, d'autres sont réfléchis.

il est nécessaire de bien s'habituer à se rendre un compte exact de ce que l'on entend par *la section optique, ou le plan optique*. Ces notions sont intimément liées à un maniement précis de la vis microscopique ; il y a longtemps que l'on a dit que le micrographe, comme le médecin, a un troisième œil au bout du doigt. En effet, ce sont les mouvements de la vis micrométrique qui donnent le *sens de la profondeur* et qui permettent, en quelque sorte, de promener le regard dans l'épaisseur de la préparation.

Les objets de forme irrégulière donnent lieu à des jeux de lumière parfois très difficiles à interpréter (fig. 62).

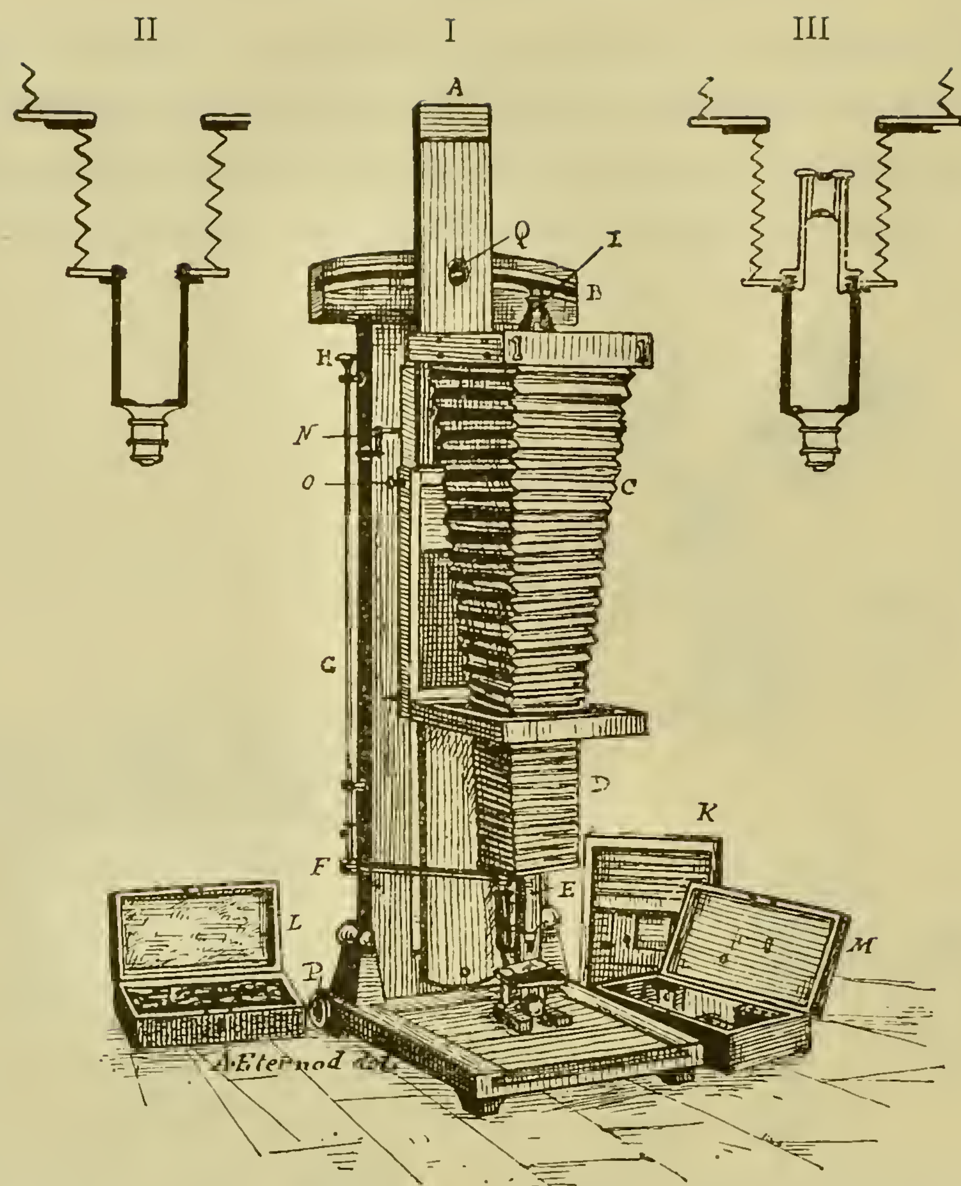


Fig. 63. GRAND APPAREIL PHOTOGRAPHIQUE UNIVERSEL DE L'AUTEUR (d'après ses dessins).

Cet appareil peut être utilisé dans la station verticale, comme le représente la figure ci-dessus, ou bien aussi dans les stations horizontale et penchée.

I Appareil disposé pour faire des photographies avec une lentille à long foyer.

- A Planchette oscillante servant de glissières à la chambre photographique et à ses accessoires.
- B Coulisse pour guider l'oscillation de la planchette. Cette oscillation peut être utilisée pour faire des épreuves stéréoscopiques.
- C Chambre photographique 24×30, à long soufflet.
- D Soufflet intermédiaire de raccord.
- E Microscope photographique à gros tube, de l'auteur. Voir fig. 136.
- F Mécanisme à triples bielles accouplées par la mise au point du microscope (construit par M. E. Jaccard, sous-préparateur). Voir fig. 137.
- G Tige du mécanisme ci-dessus.
- H Bouton de la tige ci-dessus.
- I Loupe pour la mise au point de l'image, sur une plaque spéciale inventée par l'auteur.
- K Châssis à deux faces, pouvant reçevoir des plaques de toutes grandeurs au-dessous de la dimension 24×30 et muni de nombreux perfectionnements.
- L Etui avec tous les nombreux accessoires de l'appareil.
- M Etui du microscope avec ses oculaires et objectifs de rechange.
- O Manivelles pour la mise au point de la chambre photographique.
- P Poulie folle spéciale (inventée par M. E. Jaccard, sous-préparateur), permettant le transport et la manœuvre facile de tout l'appareil.
- Q Ecrou de serrage de la planche oscillante.

II Dispositif pour photographier sans oculaire.

III Dispositif pour photographier avec le concours des oculaires.

NOTA. Cet appareil peut être utilisé en outre à toutes les autres opérations de photographie ordinaires et de laboratoire. — Il a reçu un diplôme d'honneur (la plus haute mention) avec lettre spéciale du Jury, à l'exposition internationale de Genève en 1887, une médaille d'argent à l'exposition de Paris, en 1889, et une médaille d'or (la plus haute distinction) à l'Exposition Nationale Suisse, à Genève, en 1896. Cet appareil a été construit par la maison Bauser & C°, à Genève.

DIFFÉRENTES MÉTHODES D'EXAMEN MICROSCOPIQUE

Avant de pouvoir être examinés au microscope, la plupart des objets doivent subir une préparation préalable, souvent compliquée.

Les méthodes d'examen les plus usuelles peuvent être rangées sous trois chefs principaux :

a. **Examen à l'état vivant.** Son emploi tend toujours plus à se généraliser, car il conduit, sans contredit, aux résultats les

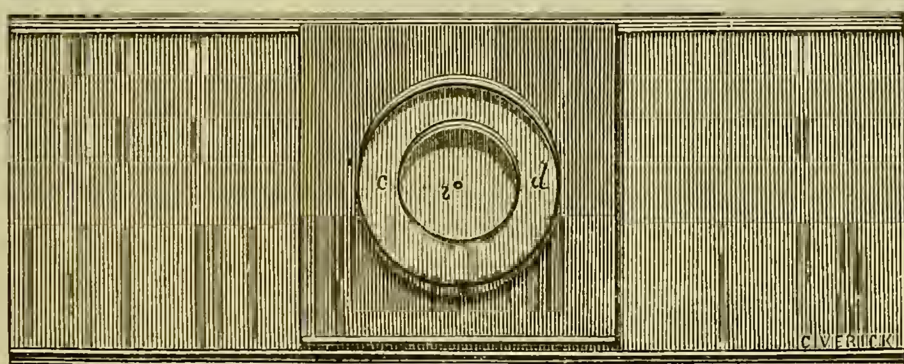


Fig. 64. PORTE-OBJET A CHAMBRE HUMIDE (de Ranvier-Vérick).
c d Sillon à demi rempli de liquide pour entretenir l'humidité de la préparation *s*.

plus sûrs. On devra le pratiquer *toutes les fois qu'il est réalisable.*

A cet effet, on procède de différentes manières, suivant les cas. On peut se contenter *d'exciser* la portion à étudier, puis de l'observer avec célérité, avant qu'elle meure, soit *directement* et sans le secours d'aucun réactif, soit après l'avoir mise dans un milieu *inoffensif,* comme la solution de chlorure de sodium à 7,5 ‰, par exemple. C'est ainsi qu'on pourra poursuivre l'étude des cellules à cils vibratiles, des spermatozoïdes et de leurs mouvements, des muscles et de la contraction de leurs fibres, etc. — Ou bien, il faudra *immobiliser* préalablement l'animal entier, mettre

à nu, s'il le faut, et étaler la partie en étude, sur une lame de verre ordinaire ou sur un appareil construit *ad hoc*. De cette façon se pratiquera l'examen de la circulation, de la reproduction cellulaire, etc. (voir fig. 67 et 108).

Le porte-objet à chambre humide (fig. 64), le porte-objet élec-

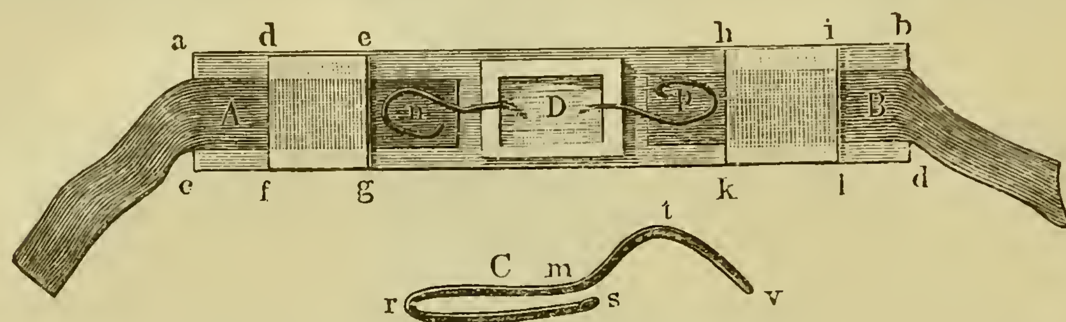


Fig. 65. PORTE-OBJET ÉLECTRIQUE.

a, b, c, d, Porte-objet.
A et B Bandes de clinquant collées au porte-objet, qu'on met en communication avec les appareils électriques.
d, e, f, g et h, i, k, l Petites plaques de verres pour mieux fixer le clinquant.
D Objet en expérience dans le liquide d'une petite cellule.
Pn Electrodes mobiles en métal, plongeant par une extrémité dans le liquide et reposant par l'autre extrémité sur le clinquant.
C Une de ces électrodes mobiles avec ses différentes courbures *v, t. m, r, s.*

trique (fig. 65), celui pour les gaz (fig. 66), celui pour les solutions et à action capillaire, d'un de nos anciens élèves, le Dr F. Buzzi

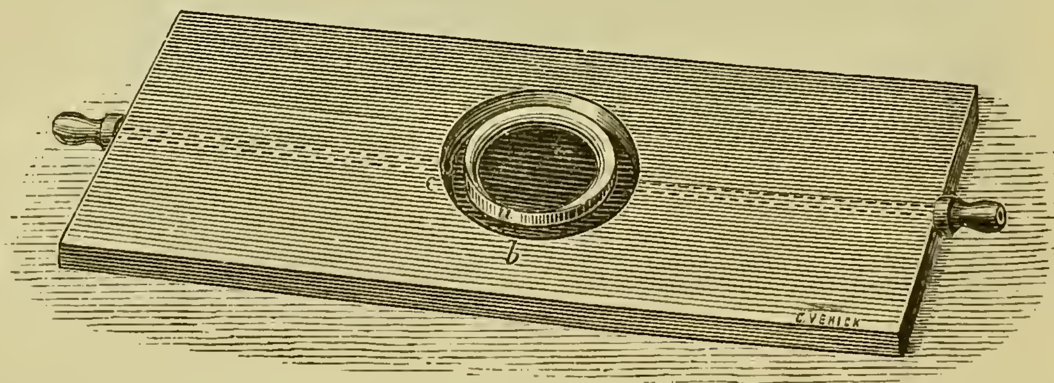


Fig. 66. PORTE-OBJET POUR LES GAZ (de Ranvier).
a Partie en contre-bas du reste du porte-objet, destinée à supporter la préparation dans son liquide.
b Sillon pour l'arrivée du gaz.
c Tube conducteur du gaz aboutissant aux deux embouts placés aux extrémités du porte-objet.

(fig. 68), ainsi que l'appareil de Holmgren (fig. 67), sont d'un grand secours pour ce genre d'observations.

b. **Examen à l'état frais.** Il est également très précieux, car il peut remplacer, en quelque mesure, le précédent, qui n'est

malheureusement pas toujours réalisable. *Il ne doit jamais être négligé,* car lui seul permet de saisir sur le vif bien des particularités importantes qui s'effacent, presque toujours, dans les préparations plus compliquées.

Pour faire des préparations d'objets frais, on prend des liquides additionnels appropriés (solutions physiologiques titrées de chlorure de sodium à 7,5 ‰, de sucre, de sulfate de soude, de gomme arabique, sérums artificiels, etc.), ou, mieux encore, si possible, le liquide dans lequel plongeaient normalement les éléments (sérum sanguin, lymphatique, etc.). De cette manière, on arrive à conserver temporairement les objets, mais jamais pour longtemps;

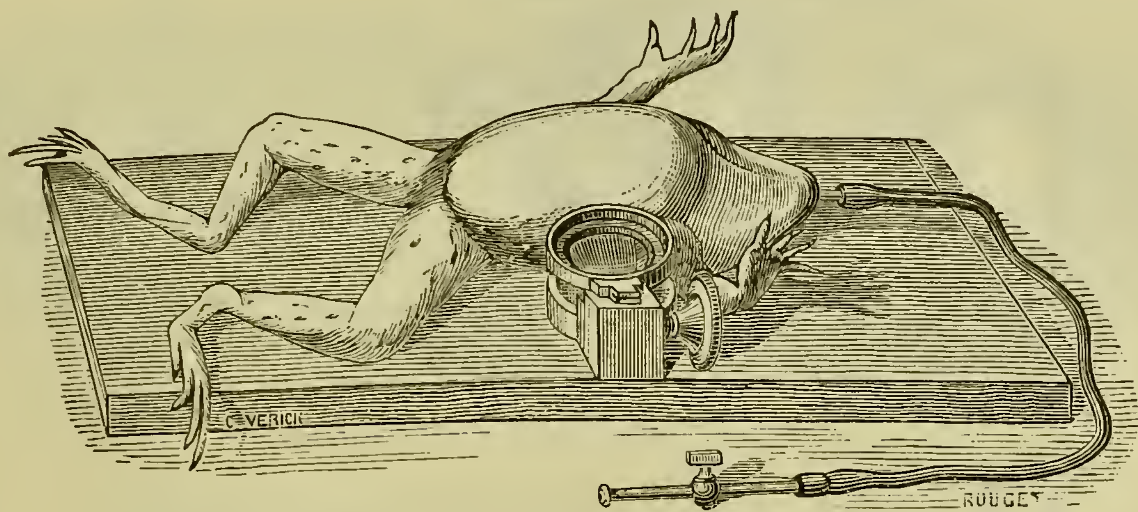


Fig. 67. Appareil de Holmgren, pour observer au microscope chez la grenouille vivante, le poumon, avec sa circulation sanguine, ses tissus, ses nerfs, etc.

au bout de quelques heures, de quelques jours tout au plus, il se produit des altérations sensibles.

Si ce genre d'étude devait se prolonger un certain temps sur la même préparation, il serait prudent de *luter* celle-ci, en faisant un *cadre provisoire* à la paraffine. Celui-ci a pour but de prévenir l'*évaporation,* qui modifie le titre des liquides additionnels employés; le moindre changement de concentration occasionne rapidement de grands désordres dans les tissus en observation.

c. **Examen à l'état de conservation.** Il se pratique sur des préparations microscopiques de pièces fixées et dites *durables.* C'est la seule méthode praticable, — mais aussi combien insuffi-

sante! — lorsqu'on doit se borner à étudier des préparations empruntées à une collection histologique. Ce procédé d'étude (p. 80), bien inférieur aux deux méthodes précédentes, demande donc,

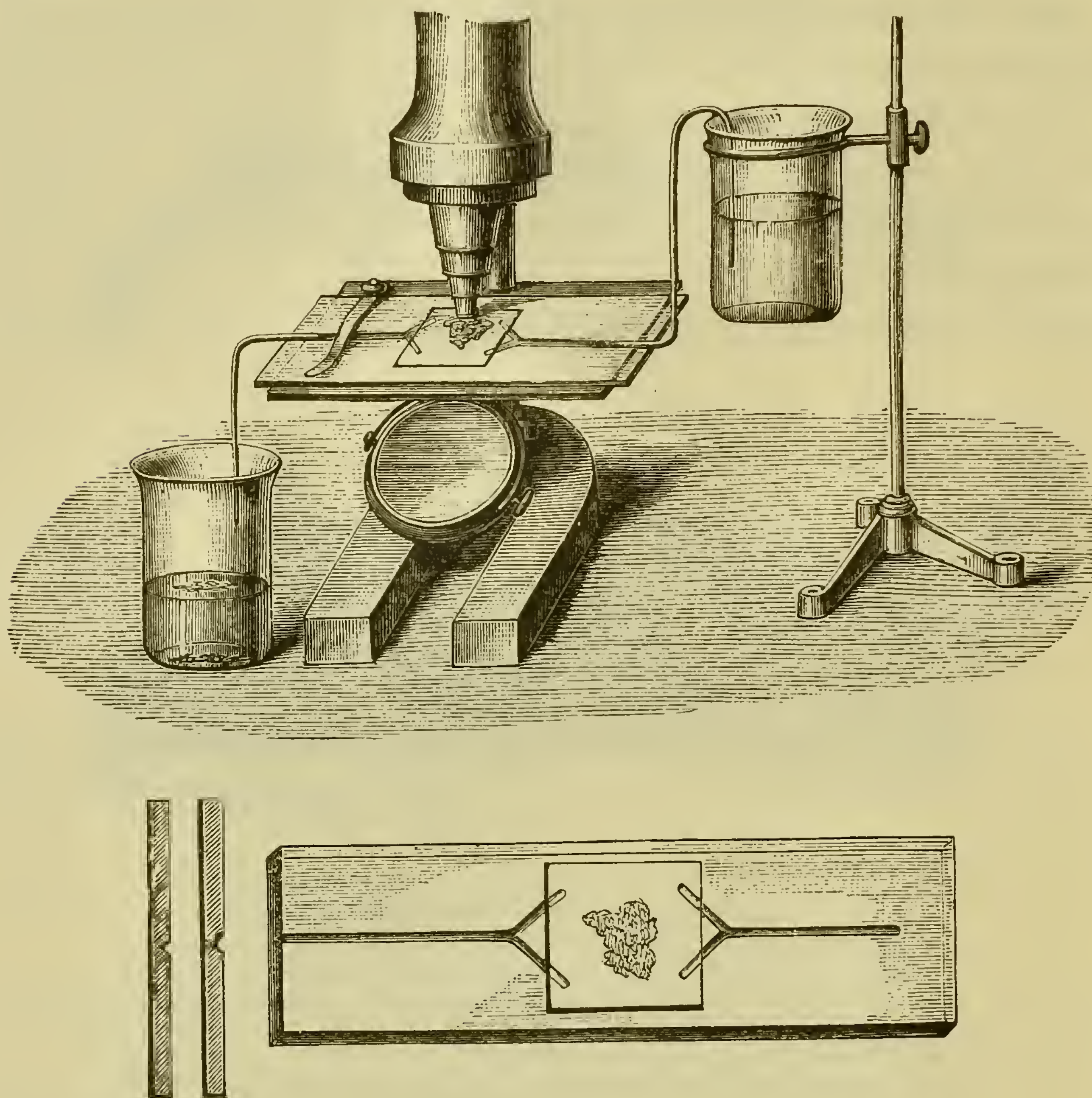


Fig. 68. Porte-objet microscopique a courant continu, du Dr F. Buzzi.

A Porte-objet en place sur la platine du microscope, avec ses deux tubes capillaires servant à conduire le liquide.

B Porte-objet, vu de face pour montrer le dispositif des rigoles creusées dans le verre.

C Porte-objets en coupe montrant : l'un un sillon semi-lunaire, l'autre un sillon triangulaire.

toutes les fois que cela est possible, à être complété par l'examen à l'état frais et à l'état vivant.

L'objet, ayant subi le plus souvent un traitement long et compliqué, ses qualités primordiales sont profondément modifiées. Aussi les préparations définitives sont-elles toujours très difficiles

à *interpréter* avec rigueur, et cela, même quand on est devenu familier avec les autres méthodes d'observation. C'est pour cette raison, qu'*il est impossible de faire de bonnes études histologiques par l'observation exclusive de collections achetées chez le marchand*. Ici, plus que jamais, il est indispensable, pour arriver à un résultat positif, de mettre soi-même *la main à la pâte!*...

CONFECTION DES PRÉPARATIONS MICROSCOPIQUES

Dans un examen microscopique ordinaire, il suffit parfois de mettre sur une *lame* (porte-objet) un fragment de la substance à examiner, d'ajouter une goutte d'un *liquide additionnel* quelconque, ou même simplement d'eau pure, de couvrir d'une *lamelle* (couvre-objet) pour pouvoir commencer l'observation. Tout au plus est-il parfois nécessaire de tracer un cadre de paraffine ou de toute autre substance.

Malheureusement, le plus souvent cette manière de procéder est insuffisante et il faut recourir à des traitements plus complexes, tels que le durcissement, la dissociation, la coloration, etc.

1° Durcissement.

Dans le but de permettre un maniement plus commode des objets et de pouvoir étudier les parties anatomiques fines dans leurs rapports mutuels, on doit souvent recourir à la *fixation* et au *durcissement* préalables des objets.

On peut augmenter la consistance des pièces au moyen des réactifs suivants :

a. Alcool. On l'appliquera plus ou moins concentré, suivant qu'on cherche à obtenir une *coagulation* lente ou rapide. La fixation rapide peut amener parfois un ratatinement et une déformation trop considérables des éléments. D'une manière générale cependant, l'alcool fort est un bon moyen de fixation; aussi est-il d'un usage journalier en micrographie. Par son application judicieuse, les objets gardent assez bien leur forme et leur coloration naturelles. Son action n'entrave pas celle des autres réactifs,

particulièrement celle des matières colorantes, comme cela se produit trop souvent après l'intervention des acides.

Ajoutons que l'alcool a le *défaut* de *dissoudre* certaines substances, comme la graisse; ainsi que de donner lieu à des *éthers secondaires* dans les pièces longtemps conservées. Dans certains cas, cela peut avoir son importance.

En thèse générale, chaque fois que l'alcool employé à la conservation d'une pièce s'est trop *hydraté*[1], ou bien qu'il a subi toute *autre altération,* il faudra le changer. Il est important que les pièces *plongent* toujours en entier dans le liquide. Sinon, il se fait sur la partie émergée une évaporation continue et plus ou moins rapide qui favorise le dépôt des substances en solution, surtout de la graisse; cela peut empêcher l'action ultérieure des réactifs colorants aqueux, qui ne peuvent plus « mouiller » la préparation.

b. Solution de Müller. Elle donne d'excellents résultats, quand on veut conserver avec exactitude les rapports topographiques d'un organe, surtout s'il est de nature épithéliale. Nous renvoyons à ce qui a été dit plus haut sur les propriétés de ce liquide (p. 46).

c. Acide picrique. On appliquera la *solution saturée.* Quoique moins employée qu'il y a quelques années, elle convient bien pour fixer certains tissus. Sous son influence, les objets prennent une teinte jaune canari qu'il faut éloigner par un *lavage* prolongé à l'eau courante. Son action demande toujours à être complétée par celle de l'alcool concentré.

d. Acide chromique. Au contraire du précédent, on utilise des solutions très diluées (1 % à 1 ‰). Ce réactif durcit, *lentement mais bien*, les organes et les éléments. Il conserve admirablement les détails des noyaux (figures de la karyokinèse). Les objets à fixer ne doivent pas dépasser le volume d'un centimètre cube; sans cela, leur centre échappe trop facilement à l'action du réactif.

[1] Ne pas oublier que l'alcool dilué au-dessous de 70° devient un réactif *macérant!*

Lorsqu'il fait chaud, on peut voir des pièces parfaitement fixées à la périphérie et pourries au centre. Pour le reste, voir plus haut (p. 45).

e. ACIDE OSMIQUE. Extrêmement commode, quand on veut obtenir une fixation instantanée. Il agit très bien sur les *éléments isolés*, moins bien sur les tissus et les organes en bloc. Sa grande avidité pour les substances organiques fait qu'il se *réduit* presque en entier à la surface du morceau en donnant lieu à une teinte noir foncé, tandis qu'il n'atteint le centre qu'avec beaucoup de peine. De là, la nécessité de n'appliquer que des solutions *très diluées* (1 % à 1-2 ‰). On peut conserver indéfiniment les pièces fixées par ce produit, en les mettant à l'alcool, après relavage prolongé à l'eau (voir plus haut, p. 43).

f. FORMOL (formaline, formaldéhyde, aldéhyde formique). Ce produit précieux constitue un moyen de conservation et un fixateur bon marché et très précieux.

C'est, comme l'ammoniaque, un gaz dissout dans de l'eau.

La solution concentrée, renfermant environ 40 % de formaline, devra être étendue d'eau. Nous employons volontiers une dilution de 1 de formol et de 10 d'eau. Les pièces s'y conservent admirablement, comme couleur, comme forme et comme structure. On peut toujours, si cela est nécessaire, achever le durcissement au moyen de l'alcool ou d'autres réactifs durcissants. Le formol n'entrave pas l'action des autres réactifs appliqués couramment en histologie. On combine parfois l'alcool et le formol et on les additionne d'une petite trace d'acide acétique.

Ce réactif fait actuellement, de la part des spécialistes, l'objet d'une étude sérieuse et qu'il mérite assurément à beaucoup d'égards.

Dans ces dernières années, on a donné de nombreuses formules de *liquides durcissants* (liqueur picro-sulfurique, mélanges d'acide osmique et d'acide chromique, etc). Ces liquides ont peu d'importance pour le but que nous poursuivons. Celui qui s'y inté-

resse spécialement pourra les rechercher dans les traités ou les mémoires spéciaux.

L'**application de la chaleur** comme adjuvant aux liquides durcissants, est devenue d'un emploi courant. Dans certains cas, on plonge brusquement l'objet à durcir dans le réactif préalablement chauffé à une température déterminée ; dans d'autres cas, on chauffe à l'étuve d'une façon prolongée l'objet immergé dans son liquide.

La coagulation par la chaleur seule est depuis longtemps employée par les anciens anatomistes et histologistes.

2° Manière de détailler l'objet.

Par ses propriétés optiques mêmes, le microscope exige que les pièces à étudier soient *minces* et *transparentes;* de manière à laisser parvenir, à l'œil de l'observateur, la plus grande somme de rayons lumineux. Pour atteindre ce but, l'histologiste possède différentes méthodes.

Voici les principales d'entr'elles :

a. **La dissociation,** qui permet d'obtenir les *éléments isolés*. Dans les cas les plus simples, on se contente d'*écraser* l'objet, en exerçant une pression légère sur le cover-glass. D'autrefois, et c'est le cas le plus fréquent, il faut faire intervenir des *réactifs macérants,* tels que : l'alcool au tiers, le sérum iodé, la solution de Müller, etc.

On obtient de bons résultats en agitant vivement et longtemps dans une éprouvette, bouchée si possible à l'émeri, la substance dans le liquide qui a servi à la macération ; en laissant reposer ; puis en recueillant le dépôt, soit par la décantation, soit au moyen d'une pipette. Certains tissus se laissent aisément dissocier quand on les abandonne à eux-mêmes et qu'ils commencent à se *décomposer :* ce dernier procédé est très infidèle et demande toujours à être contrôlé par d'autres méthodes plus sûres.

Un bon procédé consiste à opérer des pressions répétées sur la

lamelle, préalablement calée aux angles avec un peu de cire ou de paraffine.

b. **Le raclage.** Dans certains examens très sommaires, il suffit, parfois, de recueillir le produit qu'on obtient, en *raclant* au moyen d'un scapel l'extérieur ou la surface de section d'un organe ou d'un tissu. Cette méthode, très rapide, est appliquée journellement dans les recherches pathologiques : ceux qui se destinent à la médecine feront bien de s'y exercer soigneusement ; elle fait gagner beaucoup de temps. Les naturalistes, qui la pratiquent moins souvent, en retireront souvent aussi un grand profit.

c. **La dilacération,** qui consiste à écarter les uns des autres les éléments des tissus, est un des principaux modes d'investigation de l'histologie générale. Elle demande à être appliquée très méthodiquement et en tenant compte de l'agencement interne des éléments. Les aiguilles à dissocier, toujours propres et bien aiguisées, doivent être en bon état ; et surtout pas de crochets aux pointes ! La dilacération est plus malaisée qu'on ne le suppose ; elle demande de la réflexion, une bonne vue, beaucoup de patience et encore plus d'habileté. Il faut dissocier dans le sens du clivage naturel des tissus. Dans les cas difficiles, on peut s'aider de la loupe montée, ou, plus simplement, d'une bonne loupe d'horloger. Nous utilisons dans notre Laboratoire des loupes d'horlogers, montées avec du liège, au lieu de corne, qui sont très pratiques, incassables et se tiennent facilement à l'œil.

Le *procédé de la demi-dessiccation* est un excellent adjuvant de la dilacération. Nous y reviendrons à propos du tissu conjonctif lâche et séreux. Disons en passant que lorsqu'il s'agit de membranes ou de pellicules, il suffit de les étaler proprement avec les aiguilles, sans les perforer, ni les dilacérer et en profitant de l'adhésion naturelle sur la plaque de verre. On ne mettra le liquide additionnel que lorsque la membrane sera bien étendue, un peu collée au verre et l'on couvrira immédiatement avec la lamelle.

d. **Les coupes microscopiques.** Elles se font de plusieurs manières, suivant que les tissus à couper sont durs ou de nature molle.

L'instrument tranchant (rasoir, lame de microtome) servant à effectuer les coupes devra être des plus parfaits. On s'assurera avec soin qu'il n'a pas de *brèches,* même imperceptibles. Quand on passe, bien doucement et verticalement, sur le tranchant de l'ongle, un rasoir bien aiguisé, on a une sensation *comme savonneuse;* ce procédé permet de retrouver la moindre brèche. On prendra bien garde d'abîmer son instrument en le *posant* sur la table, en le *choquant* contre les objets voisins, ou même en *fermant* la lame entre les châsses, si c'est un rasoir. On devra l'*essuyer* de suite, chaque fois avant et après l'emploi, car son poli doit être toujours intact.

Il est indispensable d'apprendre à *aiguiser* et *repasser* soi-même ses instruments.

Ces détails minutieux sont d'une grande importance dans la pratique.

Les COUPES D'OBJETS MOUS s'effectuent directement sur les *tissus frais,* ou bien après que ceux-ci ont subi une préparation spéciale : durcissement, enrobage (voir p. 60 et plus loin 94). On ne saurait trop recommander au commençant de s'habituer à sectionner avec habileté *à main levée,* non seulement les substances durcies, mais surtout les tissus frais, afin de ne pas être esclave à tout propos d'un instrument à exécuter les coupes. Cette manière de faire épargne beaucoup de temps dans la pratique courante.

Comme il n'est pas toujours facile de tenir dans les doigts le morceau à couper, on peut le prendre avec le secours d'un linge ou d'un peu de papier buvard; on peut également le *pincer* dans un fragment de moelle de sureau, de liège, ou de toute autre substance n'émoussant pas le rasoir : savon, paraffine, mélanges divers à base de cire.

Pendant qu'on opère la section, il faut que la lame de l'instrument soit bien humectée, afin de permettre à la coupe de glisser sans se déchirer. On prend de préférence, comme

liquide à humecter, la liqueur dans laquelle la pièce se trouvait, alcool, solution de Müller, etc. ; s'il s'agit d'un objet frais, on mouillera avec un peu de solution de chlorure de sodium à 7,5 °/oo ; exceptionnellement, comme pour les cartilages, on sectionnera aussi à sec (voir *Tissus cartilagineux*).

A mesure qu'on les confectionnera, les sections seront recueillies dans un godet rempli de liquide (eau, alcool, etc.), pour empêcher qu'elles ne se dessèchent ; ou bien portées directement sur le porte-objet, pour être examinées de suite.

La manière d'effectuer les *coupes à main levée* est difficile à expliquer par écrit ; on y arrivera *par la pratique* même ; ou, mieux encore, en s'adressant à un histologiste *de profession*. Disons seulement, qu'en tout cas, le rasoir devra être tenu avec délicatesse et horizontalement, comme un archet de violon, et

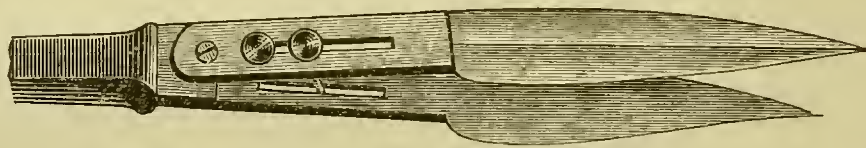


Fig. 69. Couteau double, réglable pour exécuter des coupes fraîches.

que les coupes devront se faire par une série de mouvements parallèles, de façon à lever des tranches bien égales.

Pour sectionner les organes frais, quand on veut obtenir une ou deux coupes seulement, on emploie le couteau double (fig. 69). Cet instrument est tout au plus commode dans les examens microscopiques *sommaires ;* il ne dispense pas toujours de l'obligation de faire des coupes fraîches au rasoir.

Il est possible de faire des tranches fines de certains organes, le poumon par exemple, au moyen des ciseaux tenus bien à plat sur la surface à couper.

Les tranches dans des objets durs (os, dents, etc.) s'obtiennent en rendant mous ces objets, par la décalcification ou autrement ; puis en les coupant, comme ci-dessus.

S'ils doivent rester durs, on les sectionne par un tout autre procédé. Dans ce dernier cas, on détaille d'abord son morceau, avec une fine scie, en tranches minces, qu'on use et qu'on polit

ensuite sur la meule ou sur une pierre à aiguiser d'un grain fin. Pour cette dernière opération, j'ai fait construire un tour spécial à meules horizontales (fig. 117 à 119), qui rend de bons services dans mon laboratoire (voir plus loin, *Tissus osseux*).

Disons, pour terminer ce sujet, que le sens dans lequel les coupes doivent être tracées dans un organe, ne doit pas être livré au hasard ; il faudra toujours, et pour chaque cas particulier, déterminer exactement ce sens. Une seule direction de coupe n'est d'ailleurs que bien rarement suffisante ; le plus souvent il en faut deux et même trois. Il sera toujours bon de faire plusieurs tranches dans chaque sens, afin de choisir ensuite les meilleures pour l'étude.

Pour ce qui concerne les *coupes en séries*, voir à la fin des *Méthodes techniques* et *Appendice*, à la fin de l'ouvrage.

3° Microtomes.

L'emploi du *microtome*, que du reste l'on a pas toujours sous la main, n'est recommandé que pour des recherches spéciales. En tout cas, cet instrument, d'un usage trop compliqué pour les examens microscopiques rapides, ne donnera tous ses fruits que quand on saura aussi bien couper avec le rasoir. Le microtome est très utile et même absolument indispensable, quand on veut exécuter des *séries* de coupes méthodiques dans un objet, comme cela se pratique couramment en embryologie (voir *Coupes en série*).

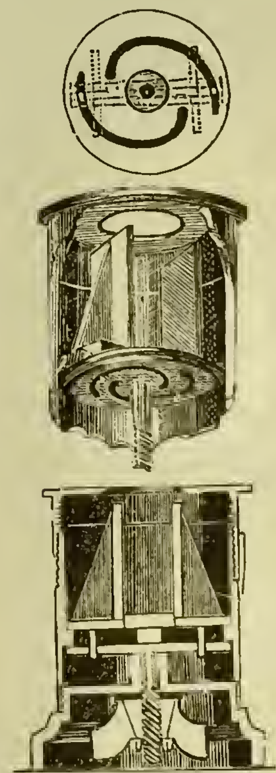


Fig. 70. Microtome étanche a double et a simple pince (de l'auteur, d'après un de ses dessins).

Les microtomes sont construits sur des types très différents. Celui de Malassez, dont nous donnons le dessin (fig. 74), page 71, permet de couper à sec, dans un bain de liquide, ou bien après congélation.

Nous avons fait construire, il y a quelques années, avec le concours de MM. Thury et Amey, mécaniciens à Genève, un *microtome étanche à*

double, à triple mors (fig. 70), qui rappelle un peu le microtome de Ranvier et surtout celui de Schifferdecker. Il permet de couper à sec, dans un liquide, ou après congélation et a l'avantage d'être petit, bon marché, tout en possédant une assez grande précision (voir pour sa description : *Journal de micrographie,* de Pelletan, 1885, vol. 9, p. 264 à 267).

Les microtomes de Strasser, à Berne, de Jung, à Heidelberg (fig. 71), de Giltay (fig. 72) et de Sedgwick Minot (fig. 73), de Malassez (fig. 74) et de Reichert (fig. 75, 76 et 77), munis de tous

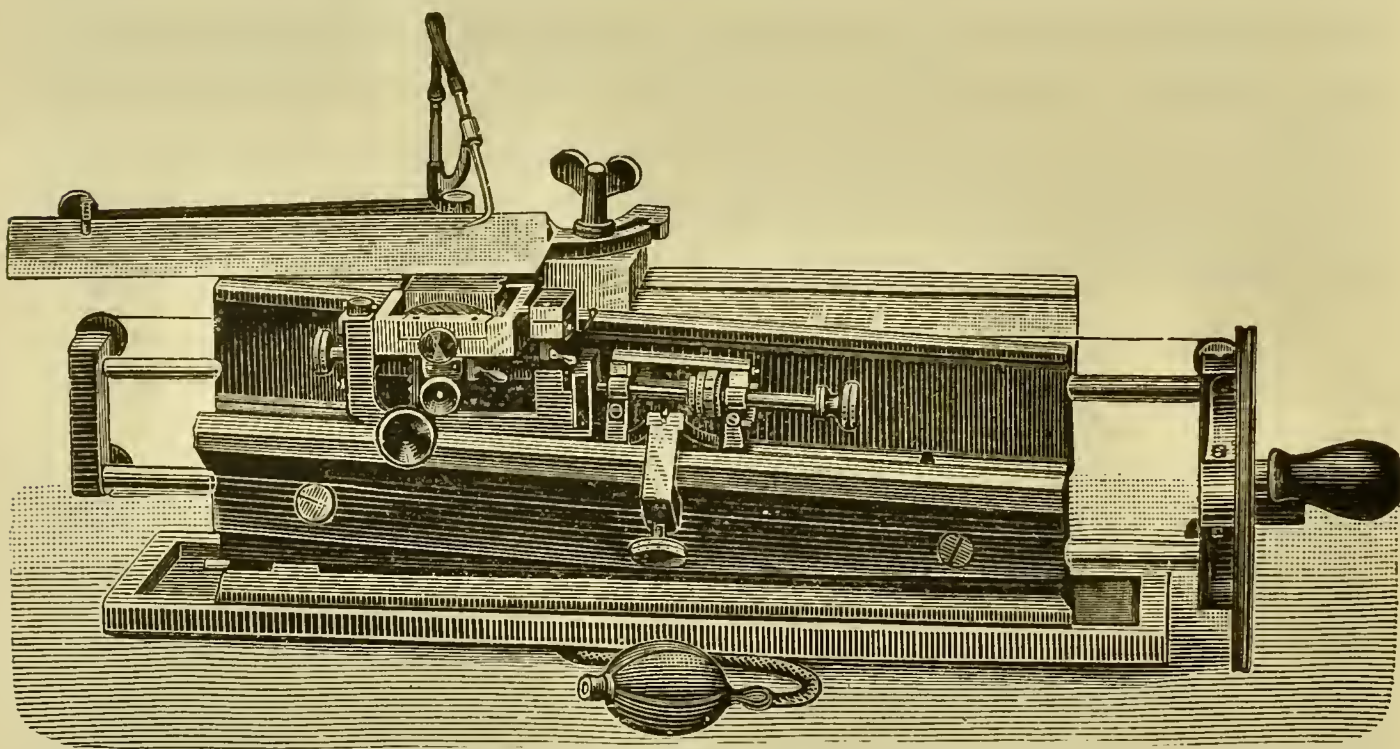


Fig. 71. MICROTOME à déclic automatique, à pince-objet en berceau, à glissière, de précision et pourvu de l'irrigateur à alcool (de R. Jung, à Heidelberg).

les perfectionnements modernes, sont des instruments de premier ordre. Le spécialiste ne saurait se passer de l'un d'eux que difficilement, lorsqu'il sera appelé à détailler, avec une précision méthodique, des coupes en série d'objets imprégnés à la paraffine.

4° Méthodes de coloration.

Elles sont très précieuses pour mettre en évidence certaines particularités invisibles à nos yeux.

Il ne faut jamais oublier que les images qu'elles fournissent sont toujours artificielles.

On devra donc se garder soigneusement de se représenter les objets sous d'aussi belles couleurs.

Il sera nécessaire de *comparer*, et même, si possible, de *commencer* chaque fois l'observation, avec des préparations non colorées, afin de rectifier l'impression produite. Du reste, pour une même substance colorante, les teintes et les aspects obtenus varient beaucoup suivant le réactif durcissant employé avant la coloration.

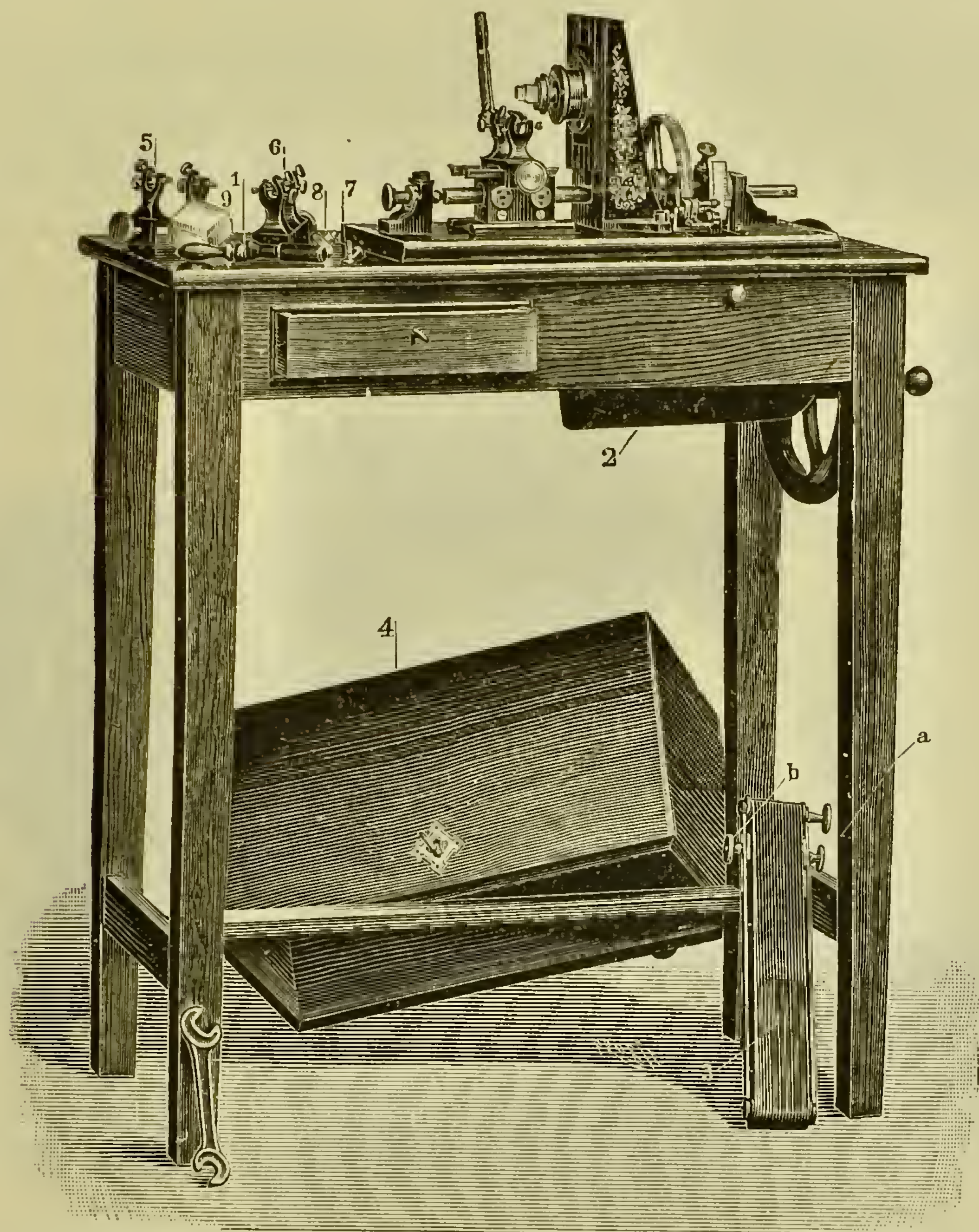


Fig. 72. Microtome automatique de Giltay (de Broukmann & C°, Delft).

1 Manivelle détachée du microtome.
2 Fermeture du mécanisme inférieur.
3 Ruban pour recevoir les coupes avec :
a bouton pour mouvoir le ruban.
b bouton de réglage.
4 Etui pour couvrir le microtome.
5 et 6 Pinces réglables pour fixer le rasoir.
7 Clef pour régler la filière de la vis de précision.
8 Support pour recevoir la pièce paraffinée.
9 Bloc de paraffine prêt à être coupé.

Pour colorer un objet, on peut procéder de plusieurs façons.

Parfois il y a avantage à suivre directement, sous le microscope, les progrès de la coloration. On fait alors pénétrer sous le couvre-objet, une certaine quantité de la solution colorante; pour réussir plus rapidement, on aspirera, de l'autre côté, le liquide avec une pipette ou bien avec un petit morceau de papier buvard, ou bien encore en suivant le procédé du Dr F. Buzzi (fig. 68). Il se produira ainsi un léger courant. Ce procédé, très commode

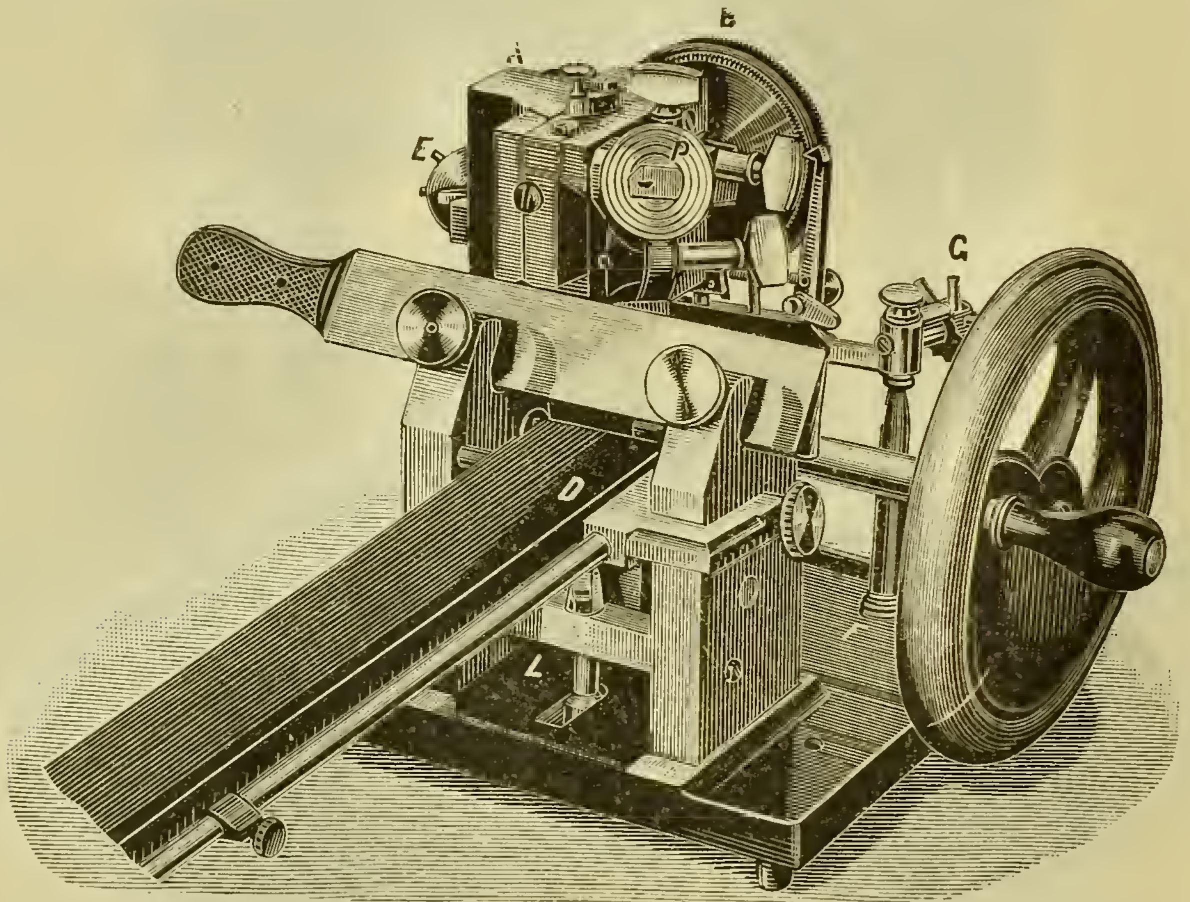


Fig. 73. Microtome automatique de Sedgwick-Minot (de Zimmermann, à Leipzig).

A Glissière.
B Roue graduée et dentée.
D Ruban transporteur.
F Plaque de support.
G Tourniquet pour régler l'épaisseur des coupes.
L Pièce servant à fixer le rasoir.
P Surface pour coller le bloc de paraffine.

pour colorer des objets dissociés ou dilacérés, est moins pratique quand on s'adresse à des coupes d'une certaine étendue : dans ce dernier cas, le réactif agit, le plus souvent, sur les bords sans pénétrer jusqu'au centre. C'est donc, en somme, une méthode précieuse pour l'étude; mais qui permet difficilement d'obtenir de belles préparations à teinte uniforme. Ce tour de main constitue une méthode générale, utilisable également lorsqu'on désire appliquer d'*autres réactifs* que les colorants.

Quand on veut obtenir une coloration bien égale d'objets éten-

dus, on s'y prend d'une autre manière. On baigne la pièce dans un récipient approprié et contenant une grande quantité du réactif, plus ou moins dilué. De là deux procédés principaux :

a. Coloration rapide. Elle consiste à immerger l'objet dans des réactifs concentrés et à surveiller attentivement les progrès de la coloration. De temps en temps, on retirera l'objet du liquide

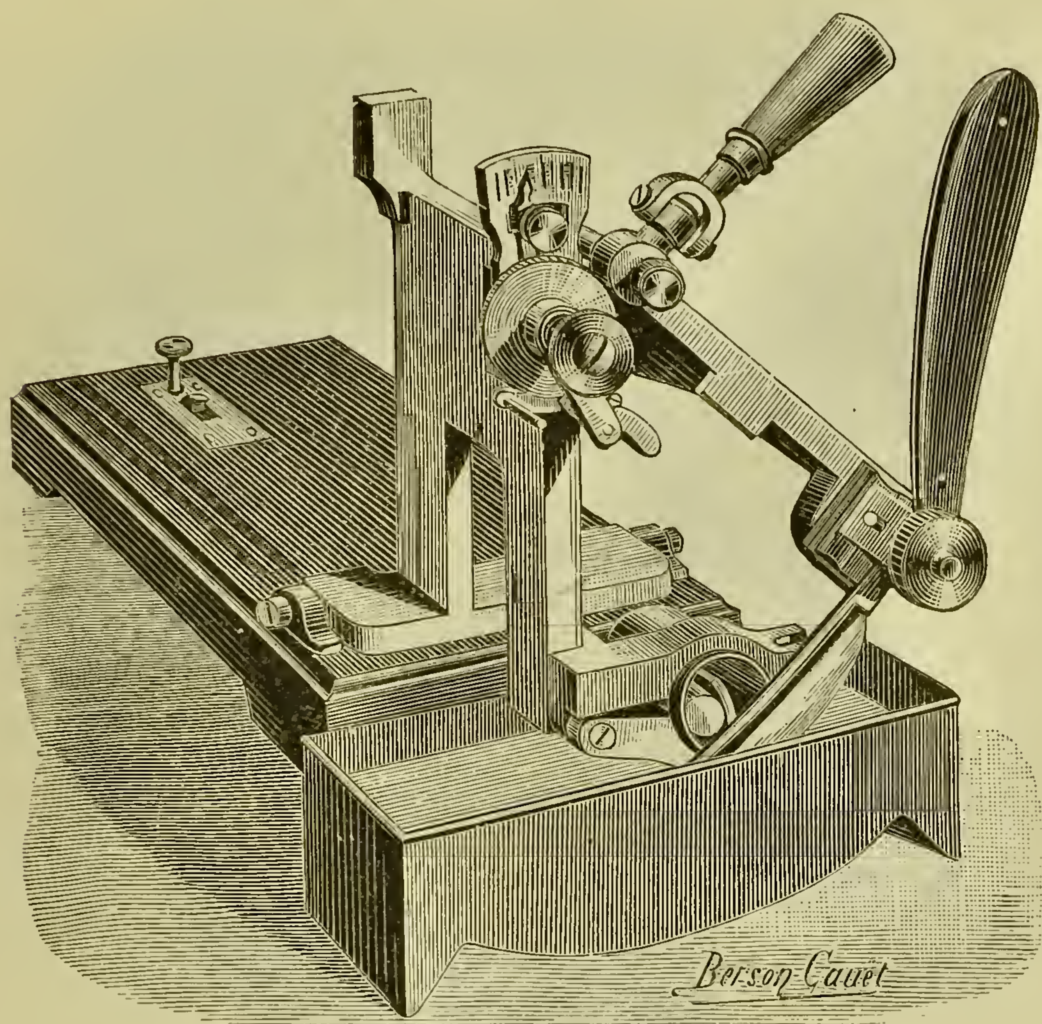


Fig. 74. Microtome a bascule de Malassez, disposé pour couper dans les liquides (de Stiassnie, succ. de Vérick).

colorant et on le relavera, pour juger de la teinte obtenue. Cette méthode est très infidèle ; on risque facilement de *surcolorer* les préparations. Le plus souvent, du reste, la matière colorante n'agit qu'à la surface ; ce qui peut prêter à des confusions. Dans ce cas, les rayons lumineux incolores, venant des parties situées dans l'épaisseur de la coupe, empruntent la couleur des parties superficielles, seules colorées. Ils se comportent comme s'ils passaient au travers d'un verre coloré et, ainsi tout le

bénéfice de la *vertu élective* du colorant est perdu. Au lieu d'une coloration distincte des éléments, nous n'avons plus qu'un simple jeu de lumière.

b. Coloration lente. Bien préférable à tous égards. On *diluera* fortement son réactif, qu'on mettra dans un grand godet, un baquet en verre, ou même, si l'on a rien d'autre sous la main,

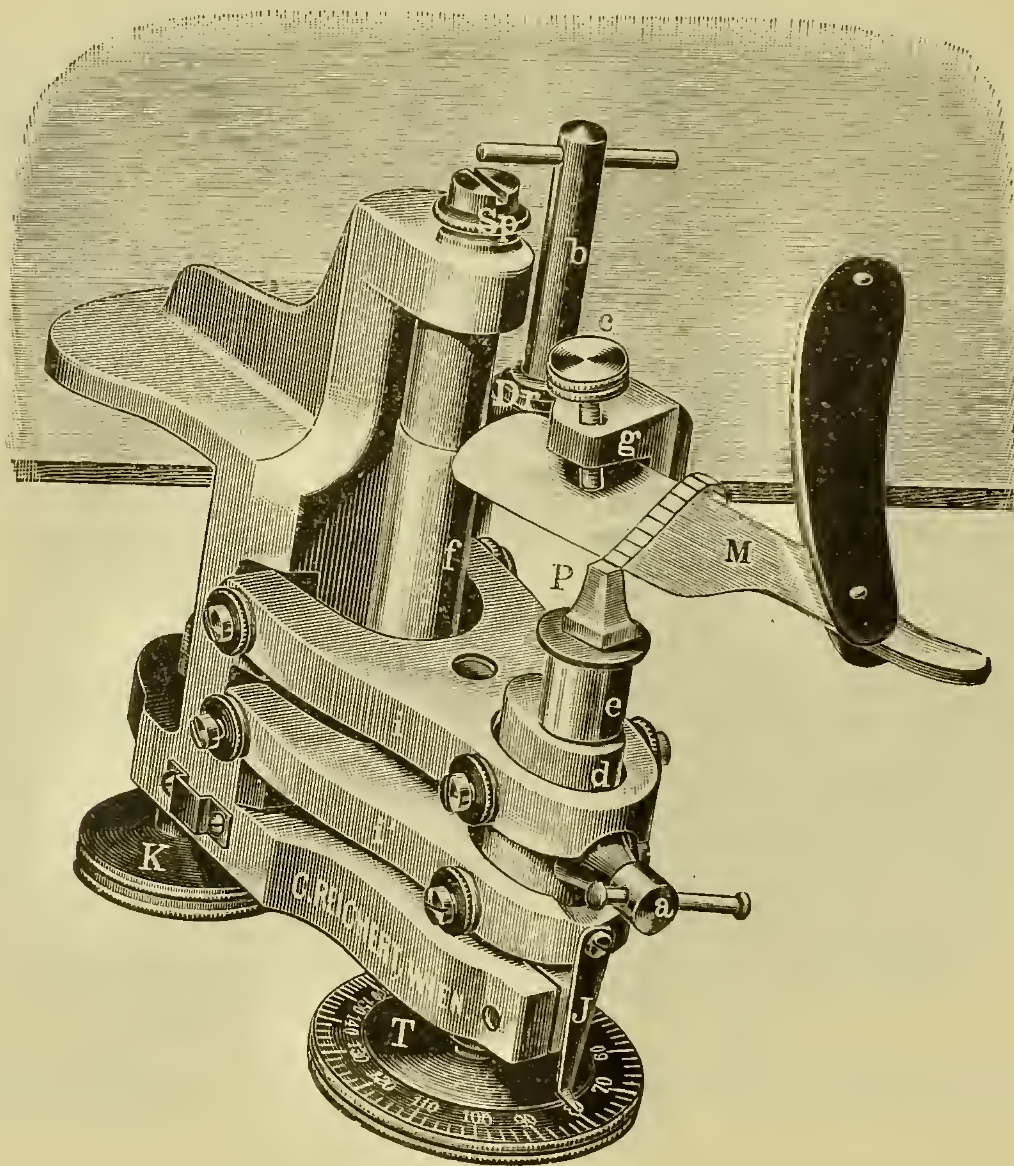


Fig. 75. Microtome avec guide a pointes (de Reichert, à Vienne). Vu de côté.

une soucoupe ou une assiette à soupe ordinaire. On étalera délicatement les coupes à colorer au fond du liquide, en ayant soin toutefois qu'elles ne se touchent pas. Dans les recherches délicates, il sera avantageux de tapisser le fond du récipient avec une feuille de papier à filtrer; ainsi la pénétration pourra se faire sur les deux faces à la fois. Il faut plusieurs heures et parfois même plusieurs jours pour obtenir la teinte voulue.

La méthode de coloration lente est extrêmement précieuse pour teinter les préparations ayant une grande étendue, surtout quand le durcissement a eu lieu au moyen de l'acide chromique ou de la solution de Müller. Elle fournit des teintes très égales; car la matière colorante a eu le temps de se répartir et de bien s'égaliser partout, en surface, comme en profondeur.

Règle générale : dans toute coloration rapide ou lente, il faut

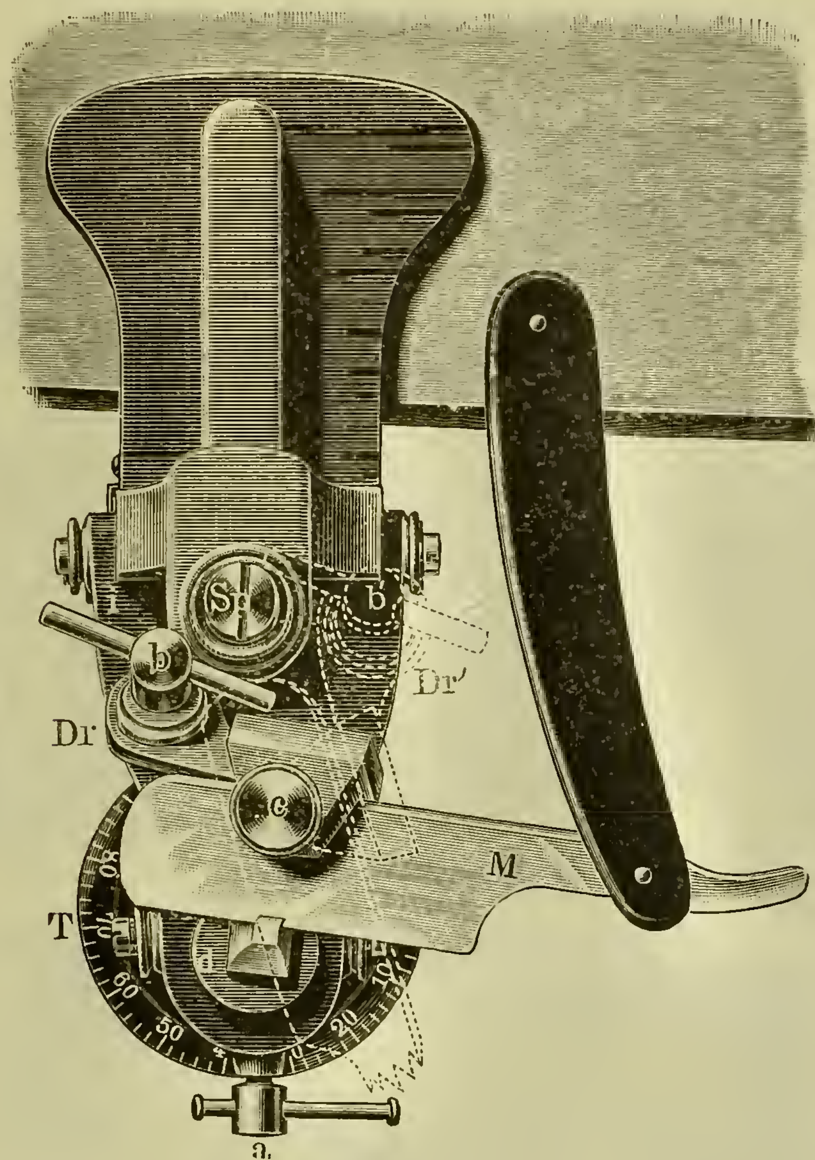


Fig. 76. Microtome avec guide a pointes (de Reichert à Vienne). Vu par en haut.

éviter que les coupes se touchent ou se superposent, car les points de contact ne prendront la couleur que d'une façon imparfaite.

Un des grands secrets pour obtenir de bonnes colorations consiste dans le relavage prolongé, de façon à retirer tout le réactif colorant non fixé.

Pour la *coloration des coupes en série* à la paraffine, voir *Méthodes d'imprégnation et d'enrobage*, p. 93, et à la fin des *Méthodes techniques*.

5° De quelques colorations en particulier.

Les réactifs colorants sont loin de remplir tous le même but et d'avoir la même valeur. Il y en a qui vont très bien pour une recherche rapide ; d'autres se prêtent mieux à la confection de préparations destinées à être conservées.

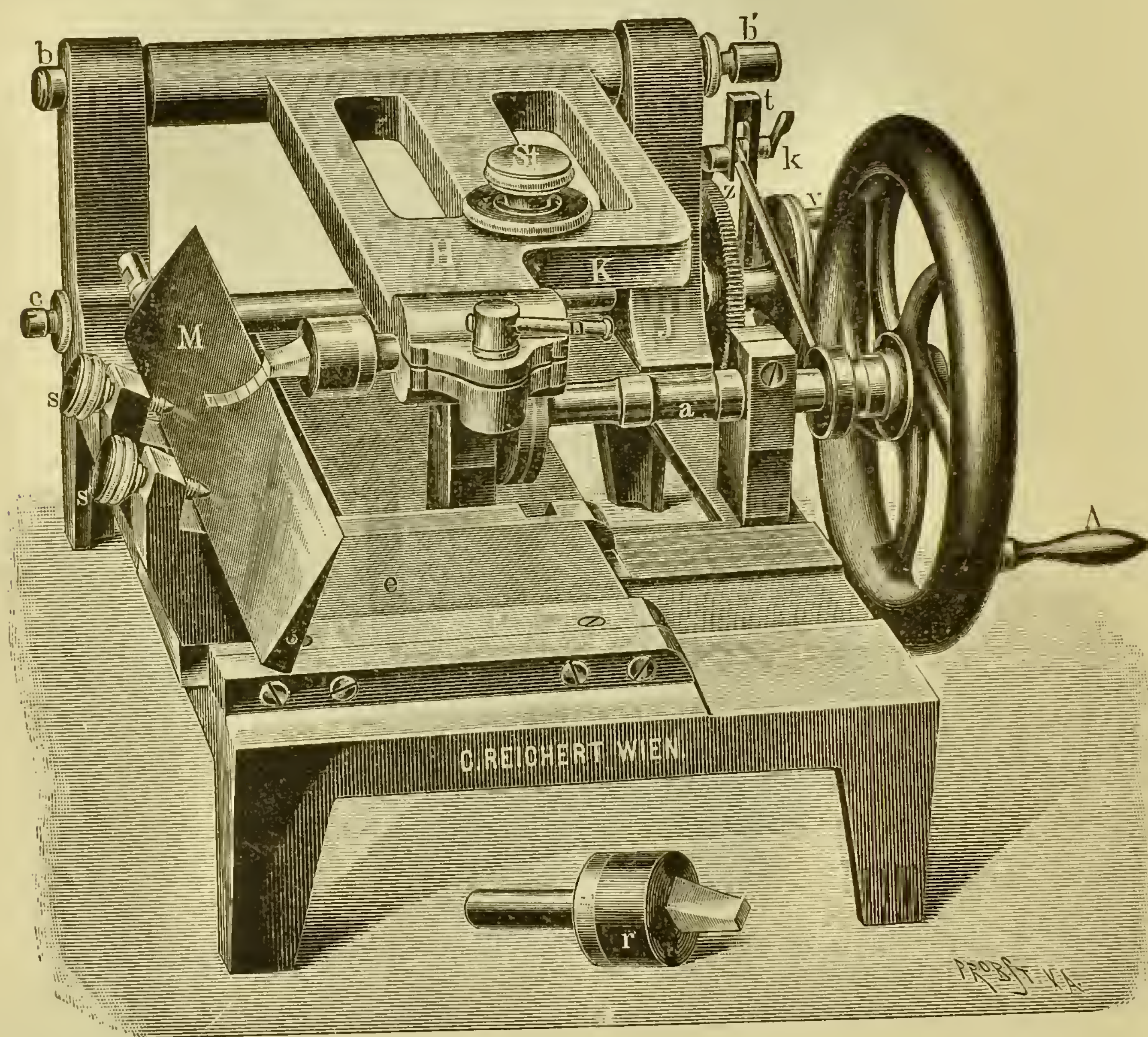


Fig. 77. Microtome a bascule (de Reichert, à Vienne).

Colorations a base de carmin. Très durables. La lumière n'a qu'une action insignifiante sur elles. Il faut éviter, dans la confection des préparations, les liquides conservateurs alcalins, car ils dissolvent, à la longue, le carmin. On aura grand soin, pour cet usage, d'avoir de la glycérine bien neutre. La teinte à donner

variera suivant les cas : elle sera, en général, moins intense pour les préparations au baume, que pour celles à la glycérine.

a. Le *carmin neutre ou légèrement ammoniacal,* réussit particulièrement bien dans les pièces durcies à l'acide chromique. On l'emploie surtout en *coloration lente ;* dans quelques cas rares, on peut colorer *en bloc* tout le morceau, avant de le détailler en coupes. Cette méthode est défectueuse quand il s'agit des colorants à l'eau, attendu que la pénétration ne s'opère que d'une façon inégale.

b. Le *carmin à l'alun* est aussi d'un très bon usage. Comme nous l'avons déjà dit plus haut, il a l'avantage précieux de ne *surcolorer* que difficilement. Quand il est bien préparé, on peut y laisser séjourner des pièces plusieurs heures et même plusieurs jours, sans qu'elles deviennent trop foncées. Il donne une belle teinte *amarante.* Il fournit, en outre, une nuance un peu différente pour chaque espèce de tissu *(vertu élective) ;* ce qui le rend très agréable dans les recherches de topographie histologique. Les protoplasmas cellulaires prennent aussi une teinte brune légère qui les rend plus apparents. L'alun a l'avantage de *tanner* les tissus et de les rendre, par conséquent, plus résistants.

c. Le *picro-carmin* (appelé improprement picro-carminate d'ammoniaque), vulgarisé en histologie par Ranvier, se prête bien à l'étude des tissus frais. Par l'acide picrique qu'il contient, le picro-carmin a une influence *coagulante* et *fixante,* qui dispense, en une certaine mesure, de recourir à la fixation préalable des éléments. Il donne, outre la teinte rouge classique des carmins, une coloration jaune caractéristique à certaines substances, comme la kératine. Dans la cellule, il colore le noyau en rouge et le protoplasma en jaune.

Comme le carmin à l'alun, le picro-carmin a une *vertu élective* pour chaque tissu ; mais, pour obtenir de bonnes différentiations, il demande à être manié avec beaucoup d'exactitude. Traités par ce réactif, les tissus prennent d'abord une *couleur jaune générale* diffuse ; c'est l'acide picrique qui a pénétré. Bientôt la teinte devient *orangée*, par l'action du carmin ; puis, cette

action s'accentuant, elle vire au *rose,* au *rouge* et enfin au *carmin* plus ou moins foncé. Lorsqu'on veut obtenir une bonne différentiation des teintes, il faut savoir choisir le moment où la coloration orangée fait place à la couleur franchement rosée. Il est bon de surveiller de très près l'action du réactif, si l'on veut avoir un beau résultat; on aura à côté du godet renfermant le colorant, un vase d'eau pure, dans lequel on mettra dégorger de temps en temps les coupes en traitement, pour s'assurer du degré de coloration.

Avant de monter la préparation définitivement, il faudra faire un *relavage prolongé,* pour éloigner tout excès de carmin et d'acide picrique.

Employé concentré, sur des pièces fraîches ou vivantes, le picro-carmin constitue un précieux *réactif double,* fixant et colorant à la fois.

Par la *méthode lente*, avec le picro-carmin dilué, on obtient aussi de très beaux résultats.

Ajoutons, pour ce qui concerne les colorations ci-dessus à base de carmin, que l'addition d'une trace d'*acide* (acétique ou autre), précise la coloration, en la localisant sur le noyau cellulaire. On peut, suivant les cas, ajouter l'acide à l'eau de relavage, à la glycérine elle-même; ou bien à l'alcool qui sert à deshydrater, si l'on veut monter ensuite la pièce au baume du Canada ou dans d'autres résines.

d. Carmin boracique à l'alcool. Il permet les colorations en masse d'objets ayant un assez grand volume, comme des embryons entiers. Voir pour son emploi, ci-dessus : *Solutions les plus usuelles*, p. 44.

Colorations a base d'hématoxyline. Elles sont très belles, mais malheureusement *peu durables*[1]. Sous l'influence de la lumière, elles ne tardent pas à pâlir rapidement. Dans l'obscurité

[1] Nous possédons dans notre collection une série de préparations qui, malgré une conservation soigneuse à l'abri de la lumière, se sont complètement décolorées dans l'espace de quelques années.

elles se gardent un peu plus longtemps ; mais elles finissent par se décolorer aussi.

A notre sens, la meilleure manière de procéder avec l'hématoxyline consiste à préparer chaque fois la solution dont on a besoin. On fera une *solution mère* d'hématoxyline pure cristallisée dissoute dans de l'alcool. Il suffira d'en verser quelques gouttes dans une solution aqueuse très diluée d'*alun;* il se produira instantanément, sous l'influence de la lumière, un liquide violet, plus ou moins foncé, suivant les quantités employées, et qu'on dosera dans chaque cas particulier, suivant les besoins spéciaux. On pourra colorer avec le produit ainsi obtenu, soit rapidement, soit lentement.

L'addition d'acide fait *pâlir* très vite la coloration, en la localisant à certaines parties déterminées : les noyaux par exemple. Cette réaction, d'ailleurs fugace, aura parfois son utilité (recherche de microbes).

Dans les préparations définitives il faudra surtout craindre les milieux conservateurs renfermant des traces d'acides (c'est le cas souvent pour la glycérine, qui contient des restes d'acide chlorhydrique). La teinte rougeâtre, violette ou bleue, fournie par l'hématoxyline, varie sensiblement suivant la nature des milieux ambiants.

Il a été fait récemment un grand nombre de recherches, sur la coloration par ce réactif, qui ont démontré que cette réaction se ferait d'une façon complexe, avec le concours de l'*hématéine,* de l'oxygène et de l'alumine.

Dans notre laboratoire, nous conseillons aux élèves de joindre la coloration par l'hématoxyline à une teinte de carmin : de sorte que, si le premier réactif vient à pâlir, le second sera conservé et la préparation ne deviendra pas incolore.

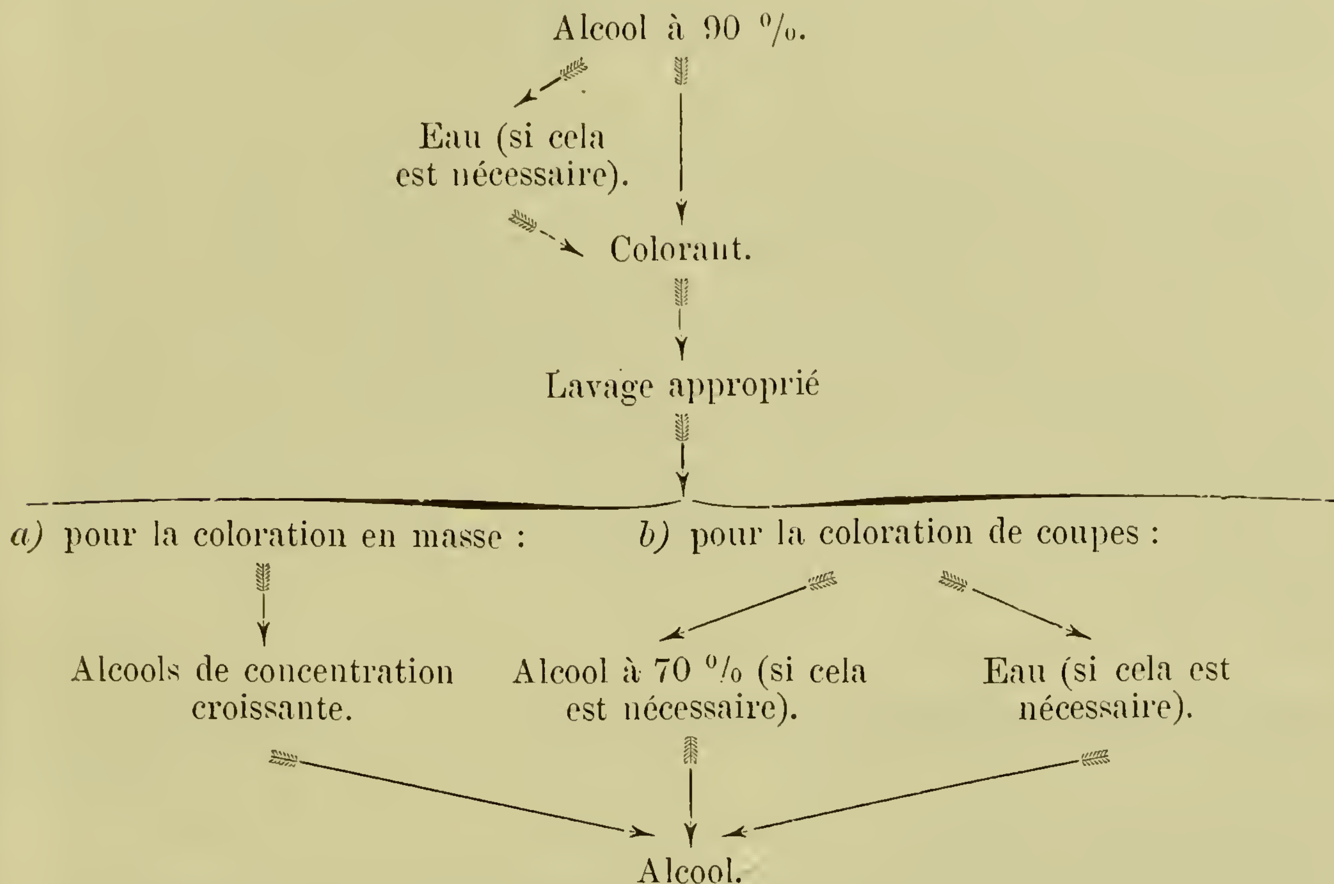
Colorations aux couleurs d'aniline. Sont très belles, donnent de magnifiques résultats, particulièrement pour l'étude des *noyaux cellulaires;* mais, comme pour le réactif précédent, elles sont peu stables. Les sels acides semblent fournir les meilleurs résultats.

La *méthode de coloration de Herrmann* consiste à plonger la préparation dans une solution aqueuse d'une couleur d'aniline, de manière à lui conférer une *teinte diffuse* intense; puis à retirer lentement la plus grande partie de la couleur, par un *lavage* à l'alcool. L'expérience démontre que la matière colorante reste plus longtemps dans de certaines parties que dans d'autres, spécialement dans les noyaux. On interrompt, à un moment donné, le relavage, en transportant la préparation dans de l'eau ou bien dans de l'essence de girofles, suivant qu'on veut la monter ensuite à la glycérine ou au baume. Si l'action décolorante n'a pas été suffisante, on remet un moment à l'alcool, et l'on recommence l'opération autant de fois que cela est nécessaire. On peut s'assurer de temps en temps, par l'observation au microscope, de l'état de la coloration. Avec un peu d'expérience, on arrive aisément à saisir le moment favorable.

COLORATIONS DOUBLES ET TRIPLES. On peut faire intervenir l'un après l'autre, deux réactifs colorants distincts. Cela peut avoir son avantage dans certains cas déterminés. C'est ainsi que l'on pourra traiter successivement par les différents *carmins,* seuls ou associés à l'*hématoxyline,* et, ensuite, par les *couleurs d'aniline.* Il ne faudra pas pousser à l'excès cette manière de faire qui, pour certains histologistes, est devenue une vraie manie. Dans quelques cas spéciaux, il est possible de faire agir simultanément les deux colorants, ainsi l'éosine et l'hématoxyline, suivant la méthode de Renaud. L'application de la méthode des colorations doubles, lorsqu'elle n'est pas faite dans un but parfaitement déterminé, n'est souvent qu'un jeu puéril et sans portée scientifique.

Les résultats obtenus avec ces différentes colorations *ne sont pas équivalents;* chacune devra être appliquée en vue d'un résultat précis à atteindre. Souvent même, il sera nécessaire de tâtonner longuement, avant d'arriver au but cherché.

Voici, pour terminer, un tableau synoptique résumant les différentes manières d'effectuer une coloration histologique :



6° Digestions artificielles, coction, etc.

Ces traitements sont quelquefois utiles, quand on veut analyser la constitution des éléments fins d'un tissu. Les digestions artificielles, appliquées avec méthode, ont rendu, dans ces dernières années, de grands services dans l'étude de la composition intime de la cellule. Elles se font au moyen de solutions, diversement préparées, aqueuses, alcooliques, ou glycérinées, de *trypsine,* de *pepsine,* etc., et qu'on fait agir soit à la température ordinaire, soit à l'étuve et à une température déterminée.

7° Manière de monter une préparation microscopique.

Elle varie naturellement beaucoup, suivant le but qu'on se propose d'atteindre. Si la pièce est épaisse, il faudra employer une *cellule,* creusée dans le porte-objet, ou bien faite avec du verre

percé, des bandelettes de verre, du carton, ou toute autre substance (fig. 17 et 65 D), que l'on fixe sur la lame avec de la colle ou un ciment approprié et qui préviennent l'écrasement de la préparation.

Préparations temporaires. Seront faites, comme nous avons dit plus haut, à propos de l'examen à l'état vivant, p. 55, et frais, p. 56. On mettra l'objet dans de l'eau ordinaire, salée, ou tout autre liquide additionnel. C'est sur des préparations semblables que l'on observera, directement sous le microscope, les *réactions microchimiques* et que l'on réalisera les principales expériences sur les *éléments vivants* (excitations par la température, l'électricité, etc.).

Préparations définitives. Destinées à être gardées dans des collections. On emploie comme *milieu conservateur* des substances de différentes natures.

Passons en revue les procédés de conservation les plus usuels :

A. Conservation a sec. Elle est rarement employée. L'objet est mis simplement entre une lame et une lamelle, sans addition d'aucune autre substance. Il faut éviter les cadres à la résine. Il suffira, dans ce cas, de fixer et de border la lamelle avec une bandelette de papier gommé. C'est avec le secours de la conservation à sec que sont préparés certains test-objets, les os, les dents, etc. Dans l'enfance de la microscopie, au siècle passé, cette méthode était d'un usage général ; on l'a, avec raison, presque entièrement abandonnée, à cause des difficultés d'observation qu'elle suscite et qui proviennent, en grande partie, du manque de transparence des objets, occasionné par les diffractions lumineuses.

B. Préparations a la glycérine. Elles ne doivent pas renfermer de bulles d'air et être soigneusement lutées. Pour les confectionner on met une goutte de glycérine sur un porte-objet; après s'être assuré au microscope qu'elle ne renferme pas de bulles d'air, on y transporte, étale et dispose délicatement la pièce à

conserver; puis on couvre d'une lamelle. Cette dernière opération est souvent difficile à exécuter d'une manière satisfaisante. On souffle un peu de *hâle* contre la lamelle, de manière à ce qu'elle s'humecte plus facilement par la glycérine, qui est hygroscopique; puis on la pose sur la goutte de glycérine, en la soutenant, s'il le faut, avec une aiguille à dissocier ou avec la pincette. On laisse le couvre-objet s'abaisser lentement à mesure que la glycérine s'étale sur le porte-objet; il ne faut pas peser sur la lamelle, mais on doit la laisser s'abaisser lentement toute seule.

Tout l'espace, compris entre le couvre-objet et le porte-objet, doit être uniformément rempli par le liquide additionnel, mais sans excès. Sans cette précaution, la glycérine déborde sur la lamelle, et l'on a ensuite trop de peine à faire son cadre. S'il y avait trop de liquide, il faudrait le retirer de suite avec une pipette, un petit linge ou du papier buvard légèrement humides.

Dans quelques cas, il est plus commode de transporter la coupe sur le porte-objet, de l'étaler, de retirer l'excès d'eau et de mettre ensuite seulement la goutte de glycérine; ou bien de dérouler la coupe sur la spatule, d'ajouter la glycérine et d'opérer le transport au sein de ce liquide.

Les pièces ne doivent pas être transportées directement de l'alcool dans la glycérine; il vaut mieux les passer à l'eau avant, sans cela on aurait facilement des bulles de gaz et des déplacements, parfois très désagréables de la glycérine.

La glycérine employée doit être bien *neutre,* à moins qu'on ne lui ait ajouté intentionnellement un réactif adjuvant : *acide acétique* ou *formique, chlorure de sodium, picro-carmin*, etc. Nous verrons chemin faisant dans quel but.

Lorsqu'on veut monter des pièces à la glycérine acidifiée, il est prudent de n'ajouter l'acide à la glycérine qu'au dernier moment et de couvrir immédiatement avec la lamelle, avant que la coupe ait eu le temps de se froncer. En ce cas, une toute petite goutte, prise avec l'aiguille à dissocier, est plus que suffisante. Autrement, il y aurait un excès du réactif qui finirait à la longue par altérer la préparation.

Il arrive parfois que la glycérine déborde par dessus la lame et la lamelle; il faudra alors enlever l'excès de réactif, puis *sécher* le verre, en passant doucement un petit pinceau ou un morceau de papier buvard légèrement humectés d'alcool, et en soufflant dessus pour évaporer l'alcool. A cause de l'inégalité de tension des vapeurs, la glycérine fuit comme par enchantement au devant de l'alcool.

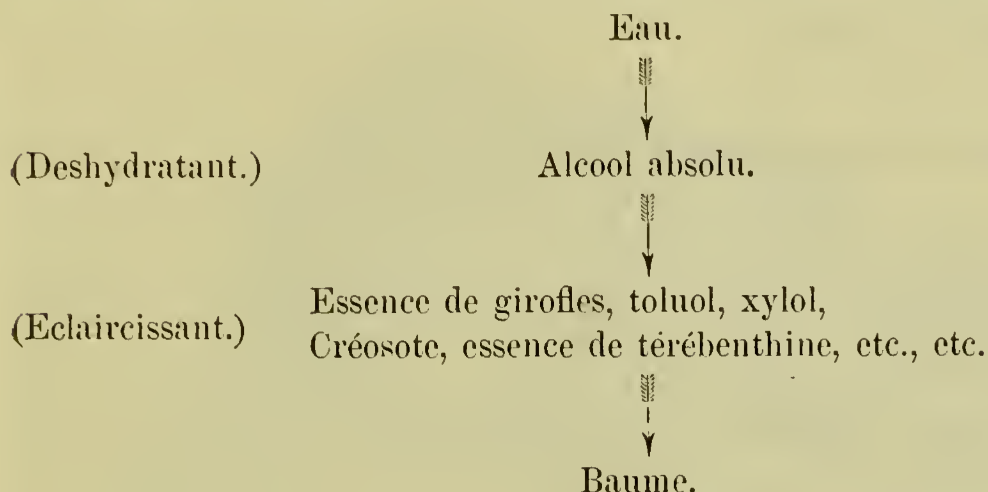
C. Préparations a la glycéro-colle. Cette substance est un mélange opéré à chaud, de gélatine de Paris ramollie dans de l'eau et de la glycérine. On l'emploie *à chaud;* elle a l'avantage de se solidifier de suite. Pour s'en servir, on met sur un porte-objet une goutte ou, mieux encore, un petit cube coupé proprement de cette substance, qu'on chauffe ensuite doucement. On place, sur la goutte fondue, l'objet bien essuyé, et, si cela est nécessaire, préalablement imbibé de glycérine; on couvre d'une lamelle, on laisse refroidir et l'on fait un *cadre* pour prévenir l'invasion de ferments nuisibles. Il faut éviter de trop chauffer la glycéro-colle; car elle se remplit de bulles, qu'il est impossible d'éloigner.

Certains objets, qui paraissent trop transparents dans la glycérine ordinaire, se voient mieux dans ce véhicule, de moindre réfrigérence, surtout s'ils étaient imprégnés d'eau avant le montage.

D. Préparations a la résine. Elles sont plus longues à obtenir, sans être pour cela toujours plus faciles à observer. Les objets doivent être préalablement *deshydratés*. A cet effet, on les fera passer successivement dans une série de milieux *miscibles entre eux et en toutes proportions*, le dernier se mélangeant bien à la résine. Ce procédé est basé sur le fait que les résines, contrairement aux gommes, ne sont pas solubles dans l'eau.

La *deshydratation* et l'*éclaircissement* s'opèrent au moyen de l'alcool absolu, puis de la térébenthine, ou mieux encore de l'essence de girofle, de lavande, etc. Avant de mettre au baume, on s'assurera, sous le microscope, que la pièce est bien deshydratée (bien éclaircie) dans toutes ses parties.

Si nous résumons les opérations effectuées, nous aurons le tableau suivant :



Ce n'est que tout à fait exceptionnellement que l'on met de suite la préparation dans le baume, sans l'avoir auparavant deshydratée (coupes d'os, etc.).

La résine employée (baume, résine d'Ammar, colophane, etc.) pourra, suivant les goûts, être plus ou moins liquide. Si elle est épaisse, il suffira de la chauffer légèrement avant de s'en servir; si on la veut liquide, il faudra la diluer avec de la térébenthine, de l'éther, du chloroforme, du xylol, ou du toluol. — Les *bulles d'air* ont moins d'importance que pour la glycérine; elles disparaissent bientôt, en vertu du pouvoir absorbant très marqué qu'ont les résines pour les gaz. Certaines résines peuvent absorber jusqu'à trois mille fois leur volume de gaz.

Avant d'ajouter le baume, il est bon de retirer la plus grande quantité possible d'essence. Un *tour de main* très commode consiste à transporter, avec la spatule, sa coupe sur le porte-objet et à la place voulue; puis à appliquer hardiment dessus un morceau de papier buvard plié en plusieurs doubles, et à exercer avec le plat de la main une forte pression, en ayant soin toutefois d'attendre que toute l'essence soit absorbée. Par ce procédé, la coupe complètement desséchée, demeure constamment adhérente à la plaque de verre sans s'endommager, même quand elle est très délicate, à condition que toute l'essence soit absorbée par le papier; il ne reste plus alors qu'à mettre le baume dessus, à poser la lamelle et à chauffer du côté de celle-ci, pour étaler le baume. Disons toutefois que ce petit tour de main ne réussit pas toujours

sur des coupes enrobées à la celloïdine et traitées ensuite par de l'essence : la celloïdine devient alors molle et adhère parfois obstinément au papier buvard.

8° Manière de luter les préparations.

Sauf pour les préparations au baume, il est toujours nécessaire d'établir un cadre fermant hermétiquement autour du couvre-objet. On emploie, comme *lut,* des substances résineuses en solution, capables de se solidifier avec rapidité. C'est tantôt de la cire à cacheter fine dissoute dans de l'alcool, tantôt du baume de Canada, du vernis blanc épais, du bitume de Judée, etc., dissouts dans de la térébenthine ou dans tout autre liquide dissolvant.

Une bonne substance à *luter* ne doit pas se rétracter trop, ni se fendiller en séchant. La rétraction peut, en effet, amener des compressions fâcheuses ; le fendillement rend la fermeture illusoire. Pour notre compte, après avoir fait des essais, nous donnons la préférence au bitume de Judée, dissout dans la benzine et additionné de quelques gouttes d'huile de lin. Cette dernière substance rend le bitume moins cassant.

Si l'on emploie des couvre-objets circulaires, on peut tracer les cadres avec la *tournette* [1] (fig. 78), petit instrument spécial très commode ; pour les lamelles carrées, on le fera *à la main,* au moyen d'un pinceau ou, plus facilement encore, avec une petite tige rigide de bois ou de métal.

Avant d'exécuter cette opération, il faudra s'assurer que le couvre-objet et le porte-objet sont bien secs : sans cela le lut n'adhérerait pas partout. Ensuite, on fera son cadre en deux temps : on tracera d'abord une première limite sur la lamelle, puis une seconde tout autour sur la lame (fig. 79) ; alors seulement, on réunira ces deux cadres l'un à l'autre, par une nou-

[1] Pour réduire le nombre des instruments placés sur la table du microscopiste, nous avons fait construire une *tournette à plusieurs fins* (fig. 78) qui réunit sur le même objet : la tournette ordinaire, les fonds de couleurs diverses et le miroir incliné avec repères pour centrer les préparations. Cet instrument est construit par la maison Thury et Amey, à Genève (voir la description de ce petit instrument in *Zeitsch. f. Wiss. Mikroskopie u. f. mikr. Technik,* 1887, vol. IV, p. 41-42, 1 fig.).

velle addition de substance (fig. 80). Si, après s'être séché, le lut présentait encore quelque défaut, il faudrait y parer, en remet-

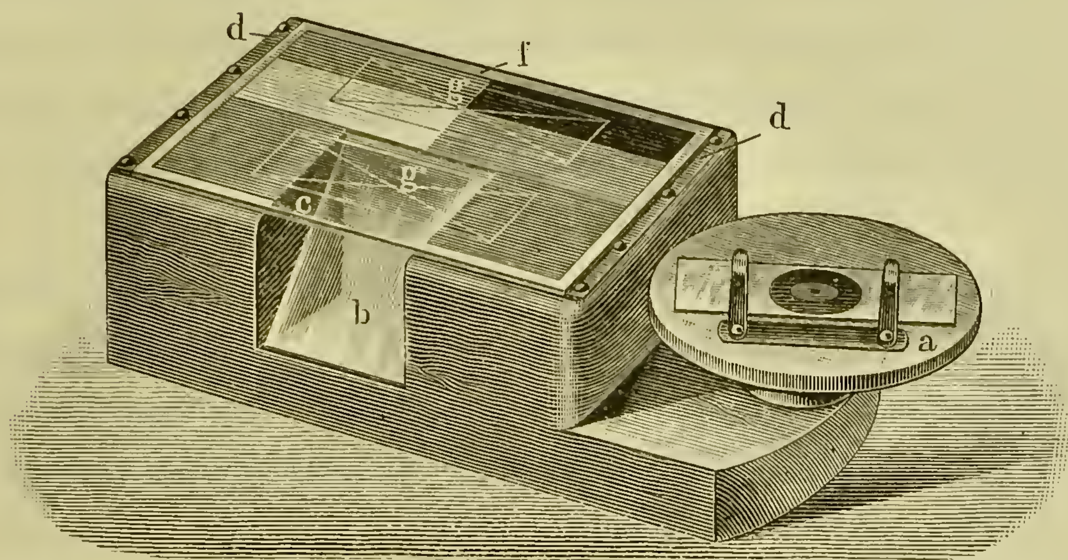


Fig. 78. Tournette microscopique à plusieurs fins, de l'auteur (d'après un de ses dessins).

tant par dessus une nouvelle couche de substance. Ces cadres demandent à être revisés, et cas échéant, réparés de temps en

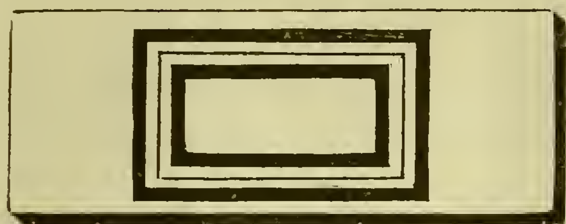


Fig. 79. Manière de luter une préparation, premier temps (dessin de l'auteur).



Fig. 80. Manière de luter une préparation, deuxième temps (dessin de l'auteur).

temps. Se méfier des petits trous qui se forment dans le lut frais sous l'influence des bulles de gaz.

Pour certaines préparations (les préparations sèches par exemple), au lieu de cadres à la résine, on colle un morceau de papier gommé et découpé d'un trou au centre. Quant à la paraffine, elle sert seulement pour les *préparations temporaires*, mais ne vaut absolument rien pour luter des préparations définitives.

9° Etiquetage.

Il est important d'*étiqueter* de suite chaque préparation d'une façon précise. Sans cette précaution élémentaire, on s'expose à faire des confusions regrettables. Les étiquettes doivent être

pourvues de *bonne colle ;* sans cela, au bout d'un certain temps, elles se détachent et se perdent. Pour parer à cet inconvénient, dans les collections sérieuses et qui doivent durer longtemps, on inscrit les indications au diamant et directement sur le verre. On utilise pour cet usage les crayons à pointe en diamant des graveurs sur pierre. Nous ne saurions trop recommander leur emploi.

On a proposé aussi dans le même but une encre à l'acide fluorhydrique; ce produit, d'un usage malcommode, est dangereux.

On vend actuellement, pour les mêmes emplois, des crayons gras spéciaux et une encre à base de silicate de potasse. Ces produits peuvent avoir quelquefois leur utilité, surtout dans les étiquetages et les numérotations provisoires des préparations et des bocaux.

Collections microscopiques.

Dans une collection bien tenue, il faut pouvoir, instantanément et en tout temps, retrouver les préparations. Ces dernières devront

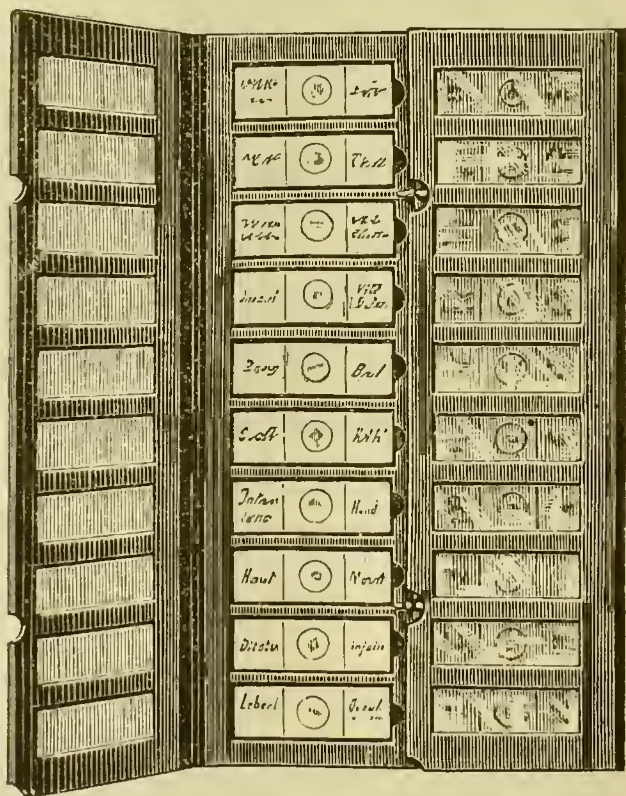


Fig. 81. Nouveaux cartons a cases distinctes et fenêtres transparentes (de la maison Hellige & C°, Bâle).

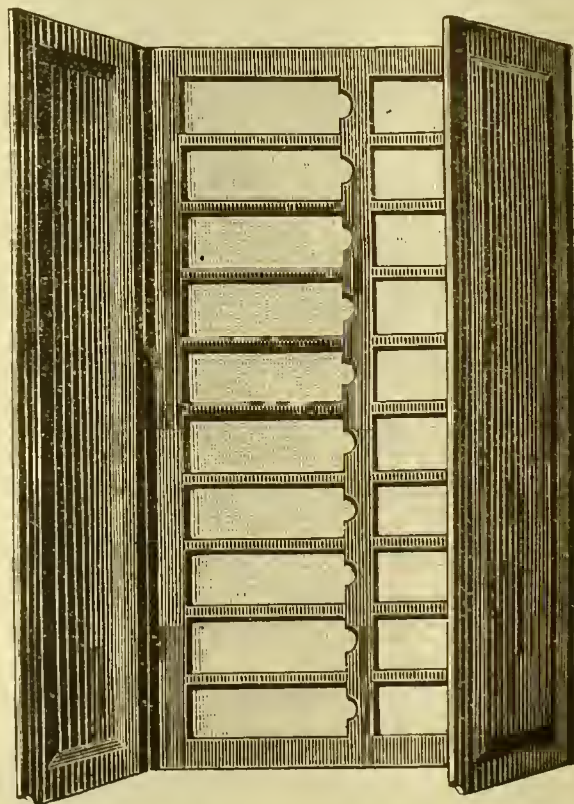


Fig. 82. Les mêmes, sans fenêtres transparentes.

être *classées* dans un certain ordre et, si la collection est importante, un vrai catalogue deviendra nécessaire. Les préparations microscopiques seront rangées méthodiquement dans des boîtes ou des cartons disposés à cet usage. Nous avons fait construire pour la collection du laboratoire d'Histologie de Genève une *armoire à préparations* très commode (fig. 95, 96 et 97) et qui peut renfermer environ 6000 préparations posées de plat [1].

Il y a un grand avantage à ce que les préparations reposent *de plat*. Ainsi, elles se conservent mieux : car, si elles sont penchées, ou mises de champ, on s'expose à voir les coupes glisser lentement jusque sous le cadre, ou bien à voir le liquide conservateur s'écouler au dehors, s'il y a la moindre fissure au lut. Il est prudent de vérifier de temps en temps l'état de ses collections, pour pouvoir porter remède aux accidents qui pourraient se produire.

La maison Hellige & Cie, à Bâle, vient de créer un modèle de cartons à préparations microscopiques fort bien compris (fig. 81 et 82), faciles à transporter et destinés à devenir assurément d'un emploi courant. Chaque préparation posée de plat, est renfermée dans une loge particulière munie d'une fenêtre garnie d'une substance incassable, transparente et d'un aspect très élégant (fig. 81). Des fermoirs spéciaux empêchent le carton de s'ouvrir.

Le classement et le transport se font avec la plus grande facilité au moyen de ces cartons.

[1] V. *Zeitschrift f. wiss. Mikroskopie u. f. mikr. Technik,* 1885, vol. II, p. 511-513, 2 fig.

———

DES INJECTIONS MICROSCOPIQUES

La méthode des injections microscopiques a rendu à l'histologie pour le moins tout autant de services qu'à l'anatomie, surtout depuis que Gerlach, Thiersch et Quecket ont créé les *masses à injections transparentes*. On peut faire des injections dans différents buts et par plusieurs procédés.

Les principales méthodes en usage sont :

I. **Les injections interstitielles.** Elles se font généralement au moyen de la *seringue de Pravaz* (fig. 18), parfois aussi, simplement par insufflation avec un tube en verre effilé à une de ses extrémités. On peut pousser dans les tissus des liquides fixateurs, des colorants divers, ou bien des masses destinés à se coaguler ensuite, naturellement ou avec le concours de certains réactifs. L'injection interstitielle est souvent un auxiliaire pour d'autres méthodes, telles que la dissociation, par exemple.

II. **Les injections dans des vaisseaux ou dans des cavités closes.** Elles servent à mettre en évidence les détails de la circulation (sanguine ou lymphatique); ainsi qu'à révéler certaines particularités dans les cavités du corps. On peut injecter, *à froid* ou *à chaud*, des substances liquides de nature variable : solution de nitrate d'argent, acide osmique, masses colorées, etc. L'injection peut être poussée, avec des appareils spéciaux ou à la main, à haute ou à basse pression.

Instruments servant aux injections.

Ce sont des pipettes effilées, des seringues (fig. 83 et 84), ou bien des appareils plus compliqués dont il existe des quantités de modèles différents (fig. 85). Chaque histologiste, suivant son ca-

price ou ses besoins particuliers, s'est plu à se faire construire des instruments de cette nature.

La *seringue à injections histologiques* ne doit pas être trop volumineuse; pour l'usage courant, une contenance de 20-50 grammes est suffisante. Son piston doit être très bien construit et doit faire l'objet d'un entretien tout spécial; il faudra l'enduire de temps en

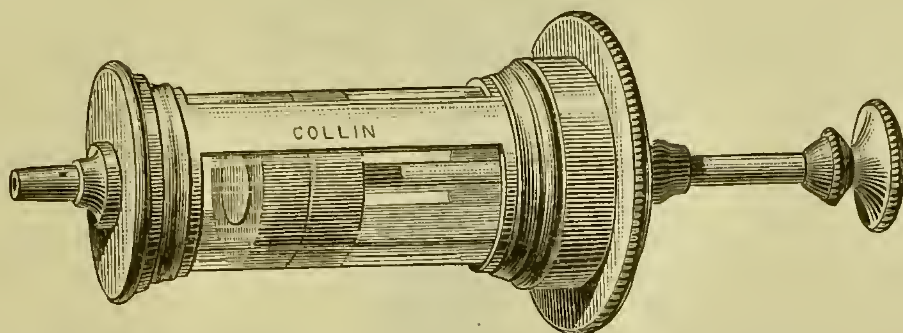


Fig. 83. Seringue a injections microscopiques de Ranvier (Collin, à Paris).

temps de suif ou de glycérine. On fait actuellement des pistons en ivoire décalcifié qui ont le défaut d'être un peu coûteux, mais qui, par contre, sont très durables et d'un usage excellent. Chaque seringue devra posséder un jeu de canules de forme et de dimensions variables, dans la lumière desquelles il faut toujours laisser un fil d'archal, pour empêcher qu'elles ne se bouchent.

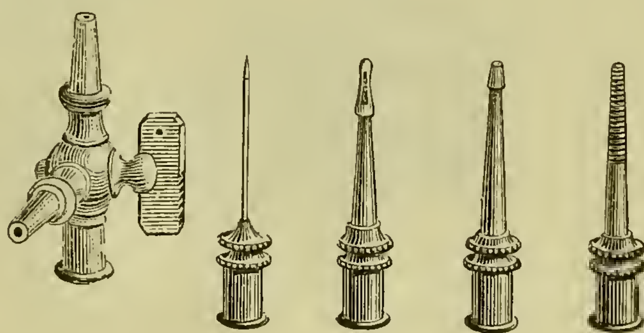


Fig. 84. Robinet double et canules variées de la seringue ci-dessus.

L'interposition, entre le corps de la seringue et la canule, d'un robinet à double écoulement est parfois d'un usage très commode, surtout quand on veut, dans le cours de la même injection, charger plusieurs fois de suite l'instrument, sans enlever la canule, ce qui est une opération toujours malaisée. Parfois les raccords de ces diverses pièces se font au moyen de pas de vis; l'ajustement des canules *à frottement doux* nous paraît bien préférable. L'interposition d'un bout de tube en caoutchouc, entre la seringue et la canule, est très pratique; elle prévient les tiraillements des vaisseaux à injecter et empêche leur rupture, surtout s'ils sont délicats.

Outre les seringues proprement dites, on a construit des instruments *à pression constante et automatique,* avec lesquels on gradue plus ou moins facilement la force et la durée de la pression. Cette dernière est fournie de différentes manières : poire en caoutchouc, colonne de mercure (appareil de Latteux), mécanisme automatique comme dans les clysopompes (seringue de Lacaze-

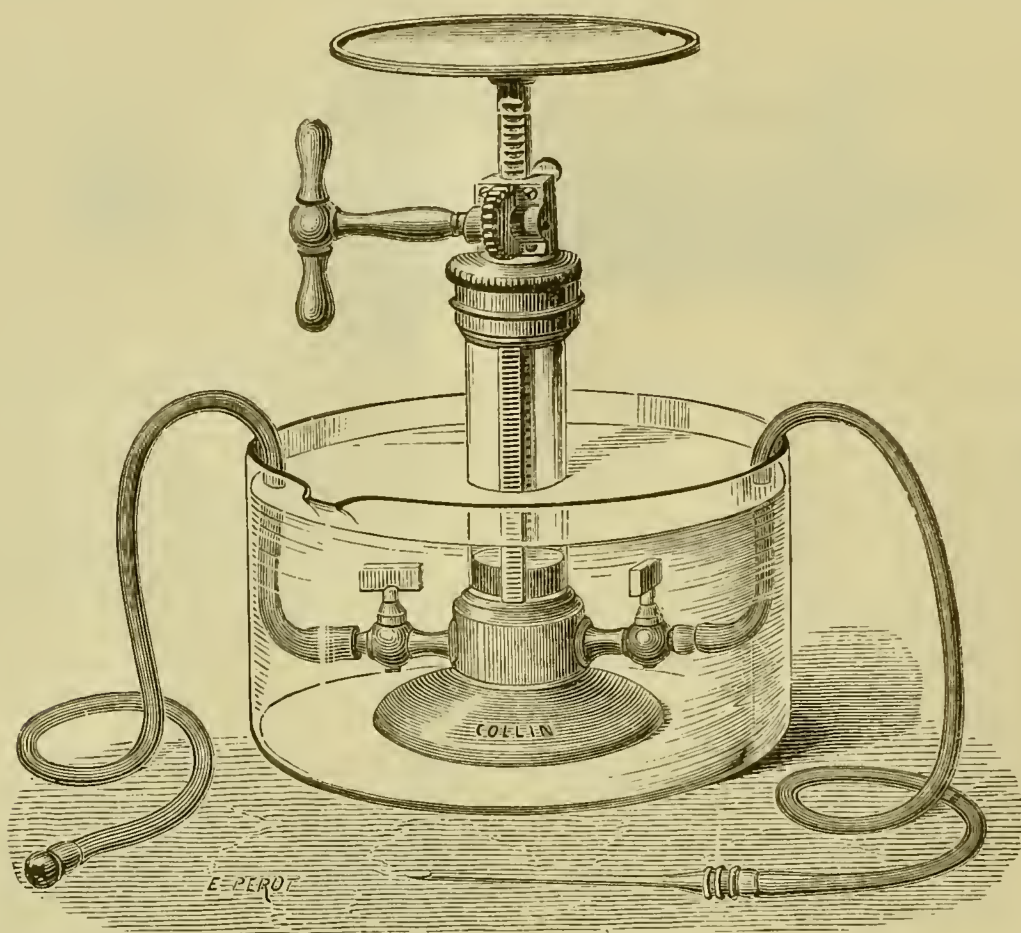


Fig. 85. Seringue a injections a pression constante ou variable, avec double robinet, de Lacaze-Duthiers (Collin, à Paris).

Duthiers), etc. Ces appareils sont destinés surtout aux grands laboratoires, où on les emploie parfois. Notre figure représente la seringue à injections de M. Lacaze-Duthiers (fig. 85), possédant un plateau, destiné à recevoir, au besoin, des poids plus ou moins lourds, et une clef que l'on peut aussi manœuvrer à la main.

Les masses à injection.

La qualité des masses à injection est des plus importantes pour atteindre un bon résultat.

Les formules qui en ont été données sont très nombreuses. Choisissons les deux plus usuelles :

a. Masse a la gélatine carminée. Difficile à obtenir avec une réaction bien neutre, ce qui est très indispensable : quand elle est alcaline, la couleur diffuse dans les tissus environnants; quand elle a une réaction acide, la masse est granuleuse et ne passe pas à travers les capillaires. Lorsqu'on n'est pas assez habile pour préparer la masse soi-même, on peut se la procurer toute faite chez les marchands de fournitures pour la microscopie. La maison Dr Grübler, à Leipzig, prépare des masses à injection excellentes à tous égards et dont le coût est inférieur à la dépense qu'on est forcé de faire, lorsqu'on veut les préparer soi-même. Pour la Suisse, ces produits peuvent être tirés par l'intermédiaire de la maison Bender et Hobein, à Zurich et Hellige, à Bâle.

Voici, du reste, comment on procède. D'une part, on fait, au moyen de l'ammoniaque, une solution de carmin pur aussi concentrée que possible. D'autre part, on met ramollir et gonfler, dans de l'eau froide, de la gélatine de Paris de première qualité. On fait fondre doucement cette substance au bain-marie. Puis on y verse graduellement le carmin en remuant constamment, avec une baguette de verre. Pour obtenir un mélange bien neutre, on est forcé d'évaporer l'ammoniaque en excès; cette opération est longue et ennuyeuse. Il est possible de l'abréger, en essayant de neutraliser la masse par l'addition, goutte à goutte, d'un peu d'acide acétique dilué. Mais l'on ne réussit pas toujours, et le travail de plusieurs heures risque alors d'être définitivement perdu, sans compter les matériaux dépensés en pure perte. En effet, si l'on vient à dépasser le point de neutralisation, la masse devient granuleuse et il est impossible alors de revenir en arrière. Il n'y a pas d'autre ressource que de recommencer à nouveau toute l'opération.

Pour obvier à ces inconvénients, il y a déjà bien des années, nous avons cherché une autre méthode de préparation, qui nous a donné de bons résultats. Profitant de la grande avidité de la gélatine pour le carmin, nous mettons celle-ci colorer, pendant plusieurs jours, dans une solution de carmin bien neutre, après lui avoir fait subir un lavage à l'eau pure. Puis, après un second relavage à l'eau simple ou additionnée d'un acide, nous chauffons

au bain-marie. La masse est alors prête à être employée. On trouve dans le commerce, sous le nom de masse à injection d'après Fol, un produit analogue au nôtre, mais dont la création est postérieure.

b. MASSE AU BLEU DE PRUSSE. On relave et on ramollit, comme ci-dessus, de la gélatine fine. On y verse goutte à goutte, en remuant continuellement, une solution très concentrée de bon bleu de Prusse soluble. On continue à chauffer; la masse, devenue d'abord trouble, s'éclaircit à nouveau. On filtre dans une chausse en laine, et on peut procéder à l'injection. La préparation du bleu de Prusse soluble demandait anciennement dans les laboratoires plusieurs mois. Actuellement les maisons de commerce que nous venons de citer en fournissent à bon marché d'irréprochable.

On a préparé des masses avec d'autres couleurs transparentes ou opaques. Les deux formules ci-dessus sont parfaitement suffisantes pour l'usage courant. On les emploiera à chaud.

Injection à chaud.

Il faudra injecter de préférence de petits animaux qu'on vient de sacrifier. Après les avoir endormis sous la cloche, avec de l'éther ou du chloroforme, on les maintiendra dans un bain-marie, pour les empêcher de se refroidir. Si les pièces à injecter proviennent d'un animal déjà froid, il faudra les réchauffer soigneusement par une immersion plus ou moins prolongée dans de l'eau tiède, avant de commencer l'opération.

La *fixation de la canule* demande une certaine habileté. Pour injecter l'animal en entier, le procédé le plus pratique sera d'ouvrir le ventricule gauche dans la narcose. Quand l'hémorragie a cessé, on introduit la canule dans le bulbe aortique; on pose une ligature solide, et, après avoir débarrassé la canule de l'air qu'elle pourrait contenir, on pousse son injection dans un mouvement lent et continu.

Si au lieu d'un animal entier, on avait affaire à des organes isolés, il faudrait par la dissection, retrouver les vaisseaux; ce qui n'est pas toujours commode.

Lorsqu'il se produit des ruptures, on interrompt l'injection, pour faire une *ligature* ou pour poser une *serre-fine*.

Parfois, avec un peu d'adresse, en sachant tenir la pièce et pincer les vaisseaux avec les doigts, on peut rapidement exécuter de fort bonnes injections, sans poser aucune ligature et sans attacher la canule.

Immédiatement après l'injection, il est bon de mettre la pièce au froid pour faire coaguler au plus vite la gélatine.

Injection à froid.

Au lieu de masses à la gélatine, nous pourrons aussi parfois employer des masses à froid; la *solution au bleu de Prusse* est encore la meilleure de toutes. Les injections à froid se pratiquent surtout par la *méthode lente*.

De suite après l'injection, il faudra fixer ses pièces par un réactif coagulant (alcool, etc.).

Quant à l'*injection dans des cavités closes,* elle sera toujours facile à conduire et nous n'avons pas besoin d'insister. Le plus souvent il suffira de piquer directement dans l'excavation avec une canule tranchante.

Le degré de pression qu'il faut appliquer est une chose qu'on n'apprend que par l'exercice. Il est parfois avantageux de simuler par de légères pesées rythmiques sur le piston, la pulsation cardiaque. Beaucoup de praticiens lient les vaisseaux en retour : les veines, par exemple, quand ils injectent par les artères. Cette pratique est condamnable, car, de la sorte, les vaisseaux sont dilatés à l'extrême et leur calibre paraît exagéré. Pour notre compte, nous laissons toujours la masse en retour s'écouler librement.

MÉTHODES D'IMPRÉGNATION ET D'ENROBAGE

Certains objets délicats sont difficiles à manier et à détailler. Il convient alors de leur faire subir l'opération préalable de l'*enrobage* ou de l'*imprégnation;* c'est-à-dire de les entourer, et même de les pénétrer dans leur épaisseur, d'une substance *qui leur donne*, en se solidifiant, plus de cohésion et de consistance.

I. **Méthodes d'imprégnation.**

Différentes *méthodes d'imprégnation* sont en usage :

1° Imprégnation a la gomme arabique. On immerge dans une solution sirupeuse de gomme arabique, l'objet préalablement durci et fixé. La gomme pénètre partout. Au bout de quelques heures ou de quelques jours, suivant les cas, on retire l'objet, on l'essuie légèrement et on le plonge dans de l'alcool, plus ou moins dilué avec de l'eau ; la gomme devient solide et l'on peut bientôt faire des coupes. Il est avantageux parfois de coller la pièce sur un morceau de liège ou, de préférence, de bois. Ceci permet de la tenir mieux à la main ou de la porter au microtome. L'alcool ne doit pas être trop concentré, sans cela la gomme deviendrait trop dure. Les coupes sont ensuite relavées à l'eau, durant un temps suffisant pour éloigner la gomme arabique.

2° Imprégnation a l'albumine. L'objet fixé est essuyé avec soin ; s'il était dans l'alcool, on le pose un instant sur un morceau de papier à filtrer plié en quatre, pendant le temps voulu (1/4 d'heure et plus). Ensuite on donne un bain prolongé (un ou plusieurs jours), dans du blanc d'œuf qu'il vaut mieux éviter de battre. L'albumine diffuse quand même et pénètre très bien dans l'objet.

Quand l'imprégnation est obtenue, il s'agit de *coaguler* l'albumine dans l'intérieur de l'objet. Différents procédés plus ou moins compliqués ont été proposés. Voici comment nous procédons : la pièce imprégnée est mise avec du blanc d'œuf (nouveau si cela

est nécessaire) dans un petit vase en terre, en verre ou en fer, légèrement graissé, pour empêcher l'adhérence de l'albumine. Nous chauffons le tout au bain-marie, ou au-dessus de la vapeur si possible, jusqu'à coagulation parfaite. Il est bon de chauffer au moins un quart d'heure, pour que la solidification s'opère bien dans la profondeur. Si l'on a une étuve, on peut s'en servir pour coaguler l'albumine, en évitant toutefois la dessication. En ce cas, il ne faut pas appliquer une température de plus de 65 à 70°.

Nous mettons ensuite à l'alcool, et, au bout d'un ou deux jours, on peut faire les coupes. L'albumine reste dans les préparations; elle n'empêche nullement les colorations et les autres manipulations. Une fois la coupe montée, elle est à peine visible, si la solidification a été bien opérée; sans cela, elle est plus ou moins granuleuse.

Nous avons essayé d'obtenir la coagulation par les acides; nous avons obtenu, dans cette direction, des résultats encourageants que nous nous proposons de perfectionner encore.

On peut même, dans quelques cas spéciaux, plonger des objets *frais* dans l'albumine et les solidifier. Nous avons vu souvent, par ce procédé, les détails se conserver d'une façon très présentable. L'élévation de température, même sur des objets frais, lorsqu'ils sont imprégnés à l'albumine, amène moins d'altérations qu'on ne le supposerait *a priori*. Parfois même les figures karyokinétiques se sont conservées.

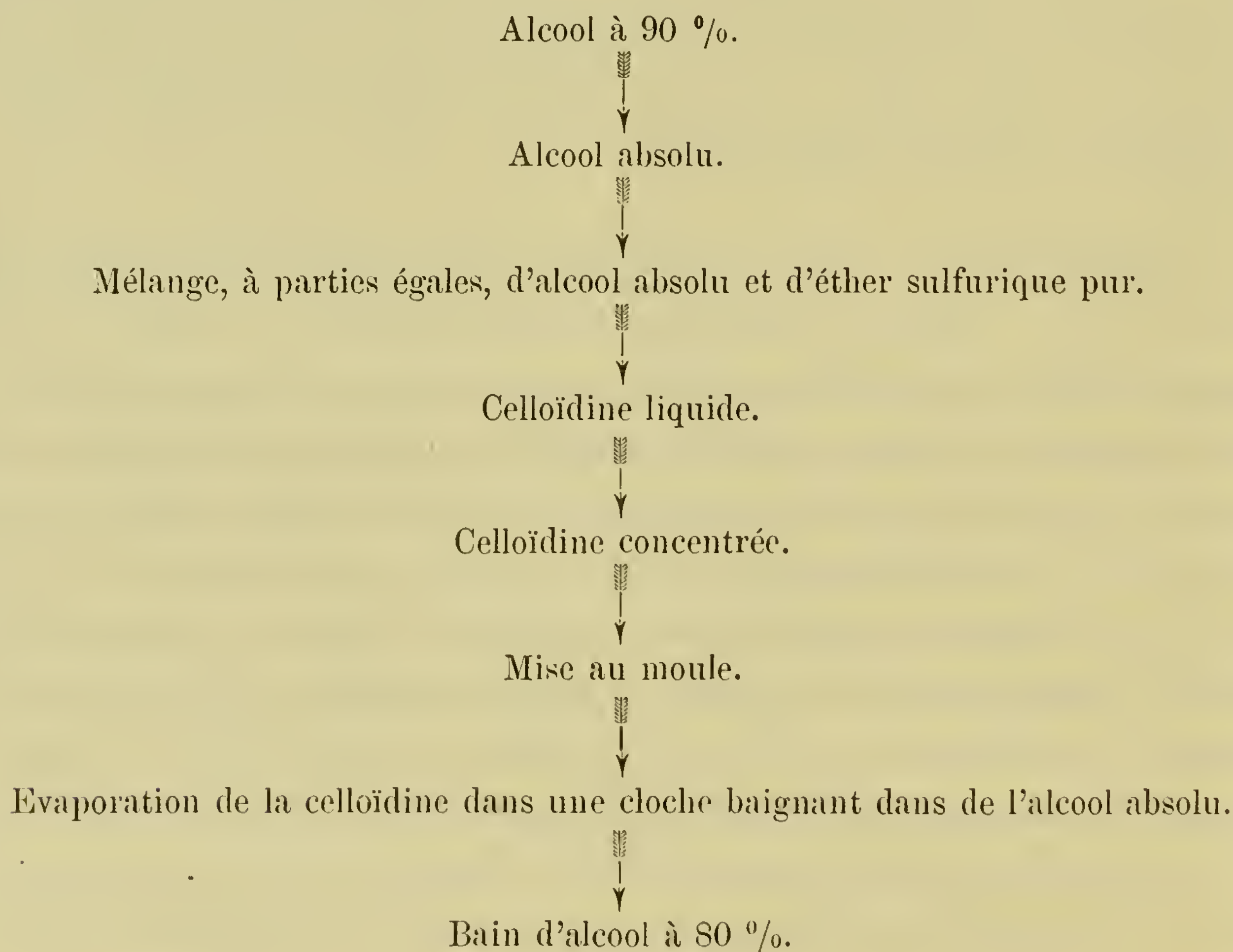
3° Imprégnation a la celloïdine. Les objets, préalablement durcis et mis dans un mélange d'alcool absolu et d'éther, sont plongés dans une solution éthérée de celloïdine, d'abord liquide, puis épaisse; on les y laisse jusqu'à complète pénétration. On les fait séjourner ensuite un certain temps dans une solution concentrée de celloïdine; puis on les en retire pour les coller avec de la celloïdine de consistance sirupeuse, sur un morceau de liège ou, mieux encore, de bois. Il est bon de faire, avec un peu de papier fort, retenu au morceau de bois au moyen d'une épingle, une petite case qui retient la celloïdine en place. Par l'évaporation la celloïdine se solidifie rapidement; après 24 heures de séjour dans de l'alcool très légèrement dilué, la pièce est prête à couper.

Une bonne méthode pour commencer le durcissement de la celloïdine, sans qu'il se produise de la rétraction, consiste à mettre, pendant plusieurs heures, la pièce avec son casier en papier et son morceau de bois, sous une cloche, placée sur une soucoupe remplie d'alcool fort, en évitant toutefois que l'objet touche directement l'alcool. On achève le durcissement dans de l'alcool à 80 °/o.

Une fois ainsi préparés, les objets peuvent être conservés jusqu'à utilisation dans l'alcool à 80 °/o ou bien dans un mélange d'alcool et de glycérine. L'alcool plus concentré attaque et dissout la celloïdine.

La celloïdine n'empêche pas les colorations, sauf celles par certaines couleurs d'aniline qui se fixent énergiquement sur elle. Elle se dissout dans l'essence de girofle et gonfle par les acides en se déformant : elle résiste mieux à l'essence d'oryganum et de lavande très pures. Une fois dans la glycérine ou le baume, elle est absolument transparente. Nous avons cependant remarqué, ces derniers temps, que la celloïdine montée au baume tend à brunir assez rapidement.

Voici, résumées, sous forme de tableau synoptique, les diverses opérations nécessaires :



4° Imprégnation a la paraffine. Très employée par les zoologistes et les embryologistes. Après avoir passé dans différents milieux (l'alcool absolu, le chloroforme, l'essence de girofles, l'éther, la térébenthine, ou, mieux encore, le toluol ou le xylol), les objets sont imprégnés par de la paraffine, dissoute dans l'un des réactifs ci-dessus ; puis portés, au bain-marie ou à l'étuve, à moins de 60-65° centigrades, dans des bains successifs de paraffine, qu'on solidifie dans des moules appropriés. *(Voir plus loin coupes en séric, p. 98.)* L'application de cette méthode demande des tours de main spéciaux et beaucoup d'habitude. L'imprégnation à la paraffine est absolument indispensable à connaître exactement à qui veut faire des *coupes en série,* destinées à la *reconstruction* graphique et *plastique.*

5° Autres imprégnations. On a également proposé d'autres substances: des savons, etc., etc. Nous n'entrerons pas dans ces détails.

II. **Méthodes d'enrobage.**

Les *enrobages* se font d'une manière plus simple. Il suffit de couler, autour de l'objet bien essuyé, de la paraffine, du savon ou d'autres produits en mélanges divers et fondus. Dans ce cas, il n'y a pas pénétration de la substance dans l'épaisseur de la préparation; mais simplement formation d'une coque solide protectrice, qui soutient sur tout son pourtour la pièce, pendant qu'on la coupe, et qui permet de la tenir mieux à la main ou de la fixer au microtome. *(Voir ci-dessus, p. 65.)*

COUPES EN SÉRIE

Dans une recherche scientifique exacte, on est appelé souvent à recourir à des sections d'objets formant une série ininterrompue et ayant une épaisseur rigoureusement déterminée. Des coupes semblables sont de rigueur en embryologie, pour pratiquer la reconstruction plastique et graphique (voir plus loin les chapitres concernant ce sujet, à l'*appendice)*.

Un grand nombre de procédés ont été appliqués pour atteindre ce but. Voici ceux que nous conseillerons, les ayant souvent utilisés nous-même.

Après avoir, si cela est nécessaire, coloré *en masse* l'objet, avec du carmin boracique ou tout autre réactif colorant approprié, on le passe à l'alcool bien absolu, bien pur et titrant au moins 98° centésimaux. Ensuite, quand la deshydratation est parfaite, on ajoute du chloroforme, du xylol, ou mieux encore du toluol rectifiés et de toute première qualité. Puis on met la pièce dans un de ces liquides bien purs, en ayant soin de le changer plusieurs fois. Lorsque l'imbibition complète est atteinte, on fait tomber, jusqu'à saturation, des morceaux de paraffine, fusible à température basse, 35° par exemple. On porte au bain-marie (fig. 86) ou à l'étuve (fig. 87), on chauffe en ajoutant toujours de nouvelles quantités de paraffine, à mesure que celle-ci fond et se dissout, en évitant de chauffer au-delà de 55 à 60° au maximum. Ensuite on porte la pièce dans un bain de paraffine pure, formé d'un mélange, approprié à la saison et à la température à laquelle on veut couper, de deux sortes de paraffine, fondant à température basse et élevée.

Ces opérations durent plus ou moins longtemps, suivant la grosseur et la nature de l'objet imprégné. Une fois la pénétration de

la paraffine bien obtenue, il faut porter l'objet dans un moule de métal (fig. 88), de verre *ad hoc* (fig. 89), ou bien de papier, qu'on remplit de paraffine. On fait refroidir le tout aussi rapidement que possible, on fixe sur un bloc de bois ou de métal et l'on coupe au microtome de précision (voir *Microtomes,* p. 67), de façon à faire des sections bien égales et d'épaisseur bien déterminée. Si l'on veut obtenir des coupes au-dessous de $5\,\mu$,

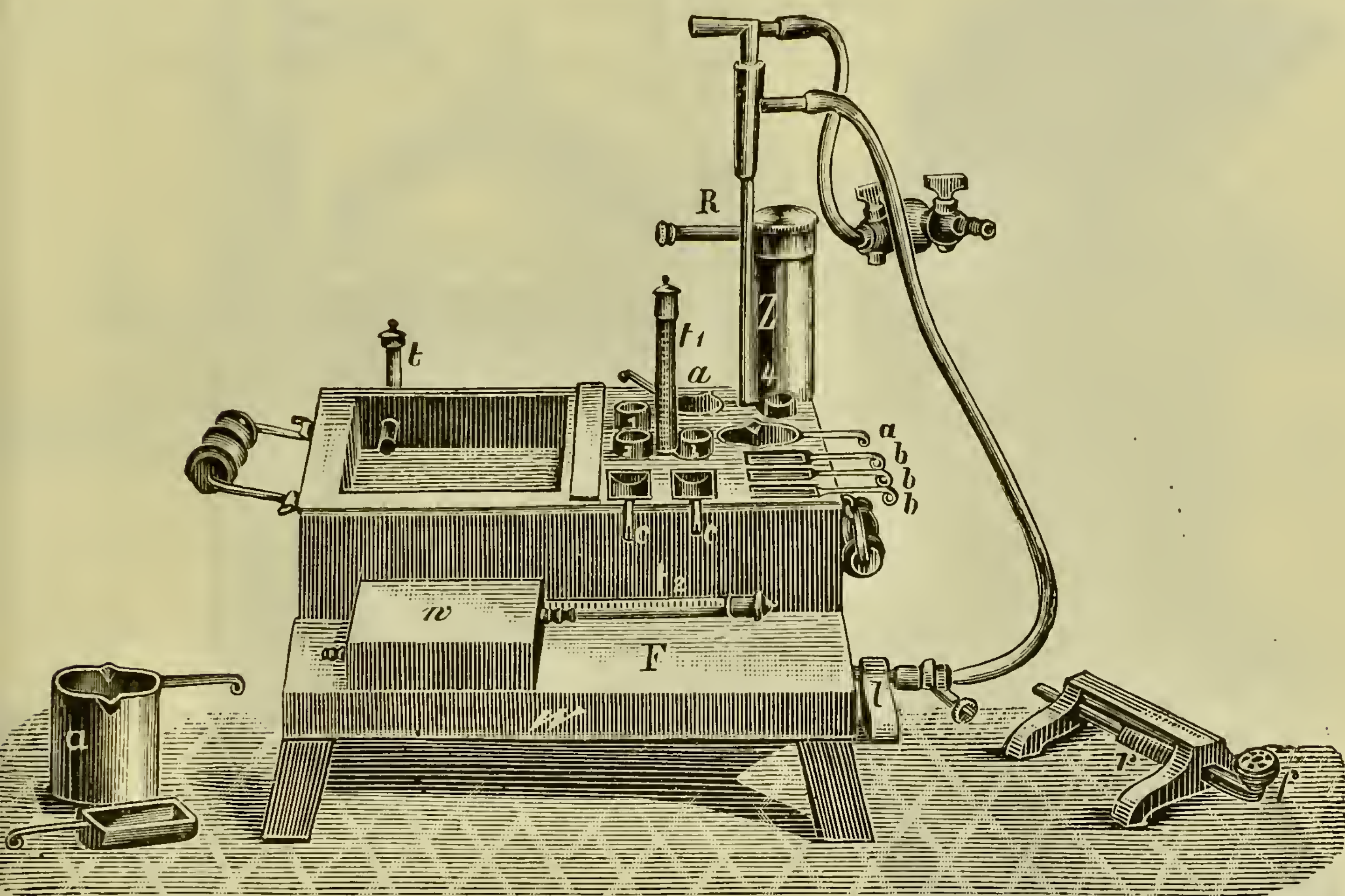


Fig. 86. Bain-marie du Dr Meyer (cliché de la maison Bender & Hobein, à Zurich).

a, b, c	Récipients pour la paraffine.	*r*	Régulateur du bec à gaz.
1, 2, 3, 4	Tubes en verre pour les mêmes usages.	R	Régulateur de la flamme à température constante.
F	Surface pour poser les porte-objets.	*t*, t^1, t^2	Thermomètres.
f	Brûleur à gaz spécial.	*w*	Surface pour couler les blocs.
l	Bec à gaz en place.		

il faut un aiguisage tout spécial de la lame du microtome, aiguisage qui demande une grande habitude pour être obtenu à coup sûr.

Lorsque la paraffine est au degré de consistance voulue, les coupes se collent successivement les unes aux autres par leurs bords, de façon à former de longs rubans continus, semblables à des vers solitaires, très faciles à manier et à transporter sur

le porte-objet. Souvent l'on a à lutter contre le manque d'adhésion des sections entre elles, qui s'enroulent et se plissent ou se tassent d'une façon marquée. On a inventé toute une série de

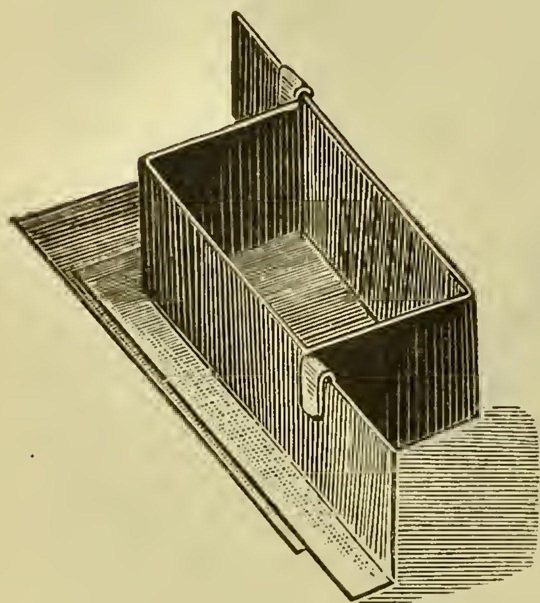


Fig. 88. Moule en métal a couler les blocs de paraffine (de Hugershof, à Leipzig).

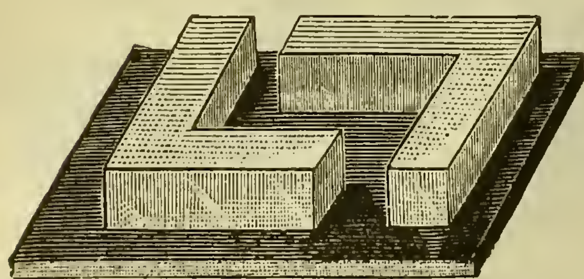


Fig. 89. Moule en verre a couler les blocs de paraffine (de Hugershof, à Leipzig).

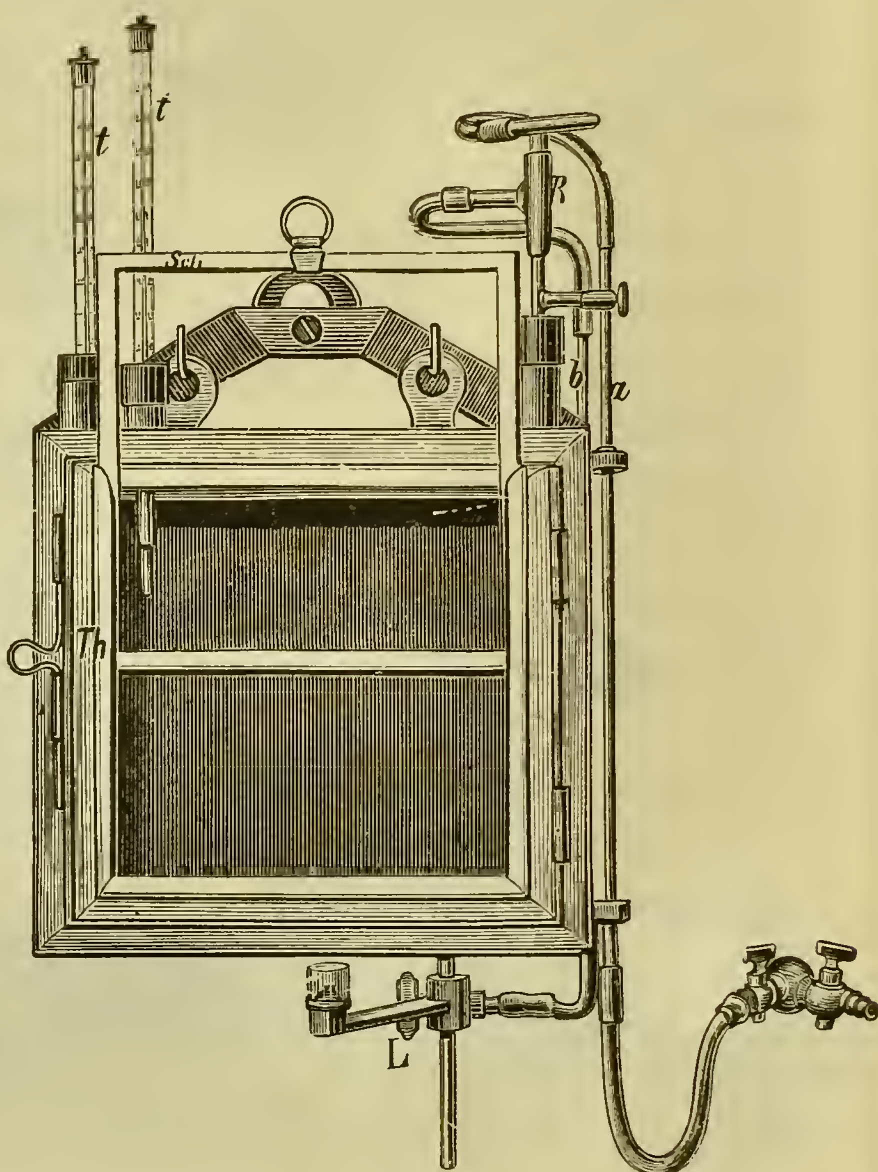


Fig. 87. Petit thermostat (étuve sèche) à suspendre contre la muraille (de R. Jung, à Heidelberg).

t Thermomètres.
R Régulateur de la flamme.
a, b Tuyaux conducteurs du gaz.
L Bec de sûreté.
Th Porte à glissoirs et à charnière.

petits appareils, dont plusieurs fort ingénieux, pour empêcher ces accidents (v. fig. 90).

Il est indispensable que les coupes, une fois transportées, adhèrent, par un moyen ou par un autre, au porte-objet. Nous nous servons d'ordinaire, pour atteindre ce but, du *collodion de Schällibaum,* composé de :

Collodion	. . . .	1 partie.
Essence de girofles	. . . .	3 ou 4 parties (suivant le degré de consistance du collodion).

On met sur le porte-objet une couche très mince de cette mixtion, avec un petit pinceau ou, mieux encore, avec une petite baguette de verre promenée une seule fois et de plat sur le porte-objet; l'on pose dessus les coupes qui s'y engluent et l'on chauffe doucement, sur un bec de gaz ou sur la plaque d'un bain-marie

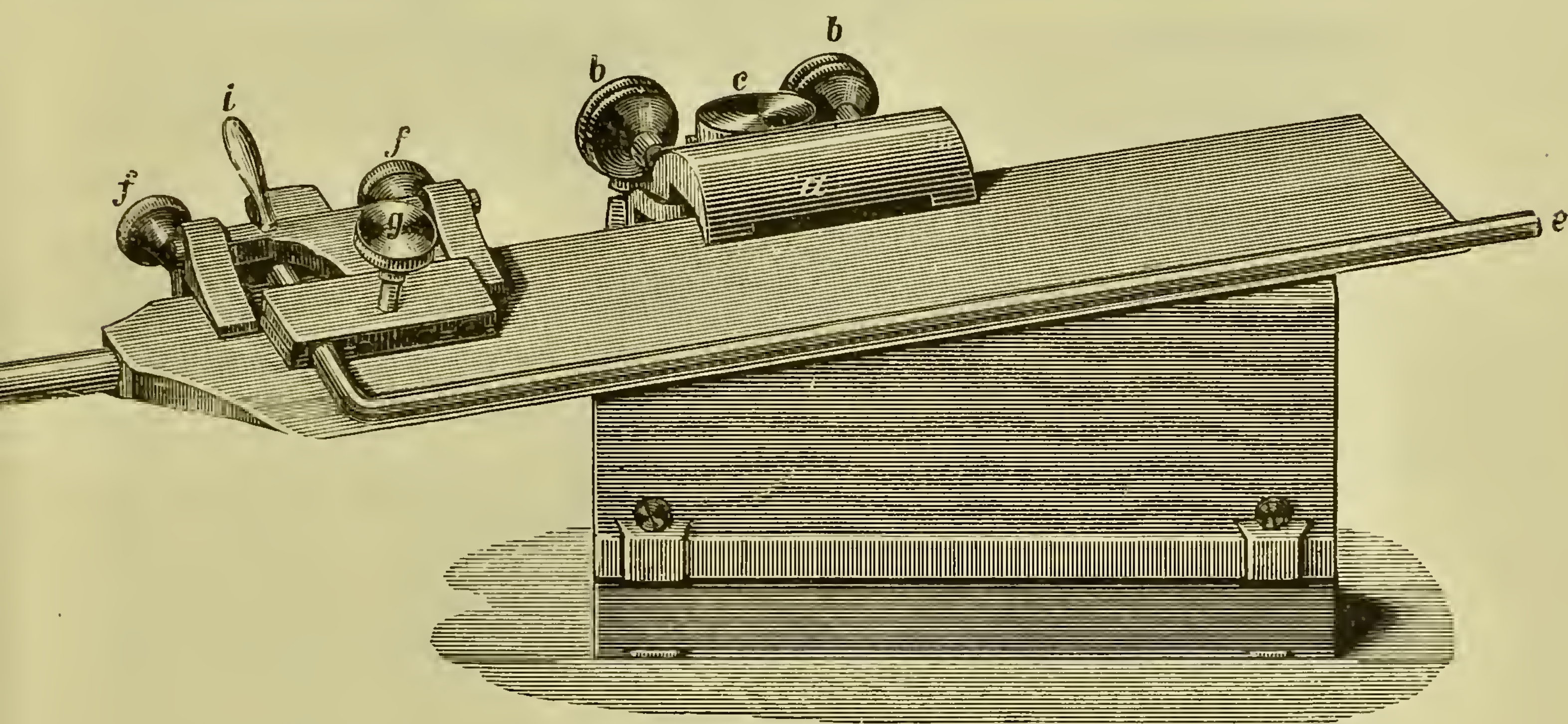


Fig. 90. Glissière et lame de microtome munie d'un appareil pour prévenir l'enroulement des coupes à la paraffine (de R. Jung, à Heidelberg).

a Pince de serrage servant à fixer la lame par le dos.
b et *c* Vis de serrage de la pince ci-dessus.
e Tige du dérouleur.
f f Vis de réglage de l'appareil.
i Levier pour faire basculer et lever la tige rigide.

ad hoc. Pour poser les coupes en rangées régulières sur le porte-objet, nous avons construit un petit schablon (fig. 98), dans lequel s'encastre le porte-objet, et porteur de lignes se coupant à angle droit et servant de guide.

La paraffine fond, les coupes achèvent de s'étaler et se collent énergiquement au verre. On éloigne la paraffine, en versant délicatement du xylol ou du toluol sur le porte-objet, ou en immergeant ce dernier en entier dans le liquide, et l'on monte dans du baume dilué avec le même liquide.

Si les coupes n'ont pas été colorées, avant l'imprégnation à la

paraffine, on met successivement, après le lavage au toluol ou au xylol, les pièces à l'alcool et même à l'eau, si cela est nécessaire; l'on colore par la méthode rapide ou lente, avec un réactif colorant approprié; puis l'on repasse par l'eau, l'alcool, le toluol et le xylol et l'on monte en préparation définitive au baume.

Résumons ces diverses opérations sous forme de tableaux :

1. Pour enrober à la paraffine et monter au baume.

Alcool à 90 %.
|
Alcool absolu au moins à 98 %.
|
(Alcool et toluol ou xylol, etc.)
|
Xylol ou toluol, etc., purs.
|
Ajouter paraffine à froid.
|
Ajouter paraffine à chaud.
|
Bain de paraffine pure, chauffée.
|
Couler au moule.
|
Couper en série.
|
Coller au collodion de Schällibaum.
|
Chauffer légèrement.
|
Laver au toluol, xylol, etc.
|
Baume.

2. Pour colorer les coupes en séries collées au porte-objet.

Lavage au toluol ou xylol.
|
Alcool absolu.
|
Colorant { alcoolique (carmin boracique à l'alcool). / ou aqueux (carmin, etc., etc.).
|
Lavage approprié.
|
Alcool absolu.
|
Toluol ou xylol, etc.
|
Baume dilué au toluol, xylol, etc.

Coupes en série à la celloïdine. Pour leur faire subir les traitements appropriés, on recevra, à mesure qu'on les fait, les sections dans un godet à cases multiples. Ainsi, on évitera de brouiller la série. Notre *godet à cases multiples et transparentes* rend de grands services dans ce cas, (fig. 101 et 102).

MÉTHODES DE NUMÉRATION ET DE MENSURATION MICROSCOPIQUES

Dans les recherches sur le sang et sur les microorganismes, il est important de pouvoir compter exactement au microscope le nombre des éléments.

Numération. Voici le principe des procédés appliqués :

On amène un volume déterminé de substance dans un espace de dimensions connues.

On observe cet espace au moyen d'un oculaire quadrillé et l'on compte le nombre des éléments renfermés dans chaque carré (voyez fig. 91). Une simple règle de trois permet de trouver le rapport exact du nombre des éléments pour un volume donné.

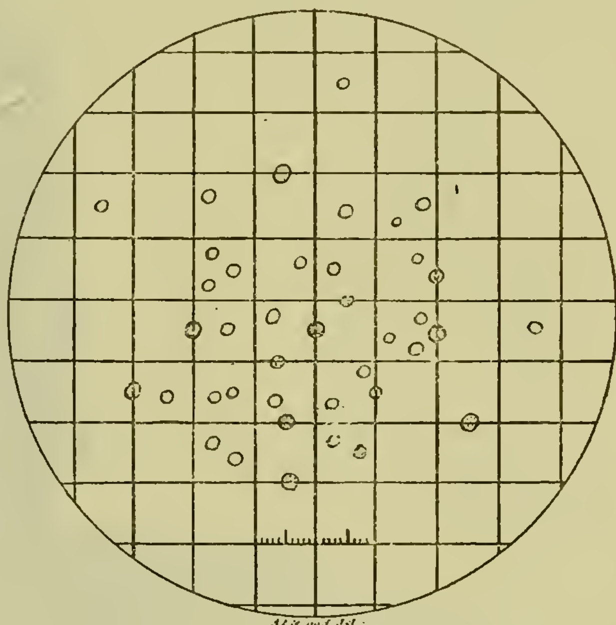


Fig. 91. Globules vus au microscope avec oculaire micrométrique quadrillé. Les blancs sont dans les carrés, les foncés sont à cheval sur les lignes. (Dessin de l'auteur.)

Dans la numération avec l'oculaire quadrillé, une difficulté se présente : comment faut-il compter les globules à cheval sur les raies du micromètre? Il suffira de considérer méthodiquement tous les globules placés sur les raies verticales, comme appartenant au carré de droite ou de gauche, et tous ceux situés sur les raies horizontales, comme appartenant au carré supérieur ou inférieur (fig. 91). Voir, pour plus de détails : *Sang* et fig. 109 à 112.

Mensurations. Quant aux *mensurations microscopiques*, on peut les faire de différentes manières. La méthode la plus simple consiste à observer les objets avec un micromètre à échelle placé dans l'oculaire et à établir, au moyen d'une règle de trois, le

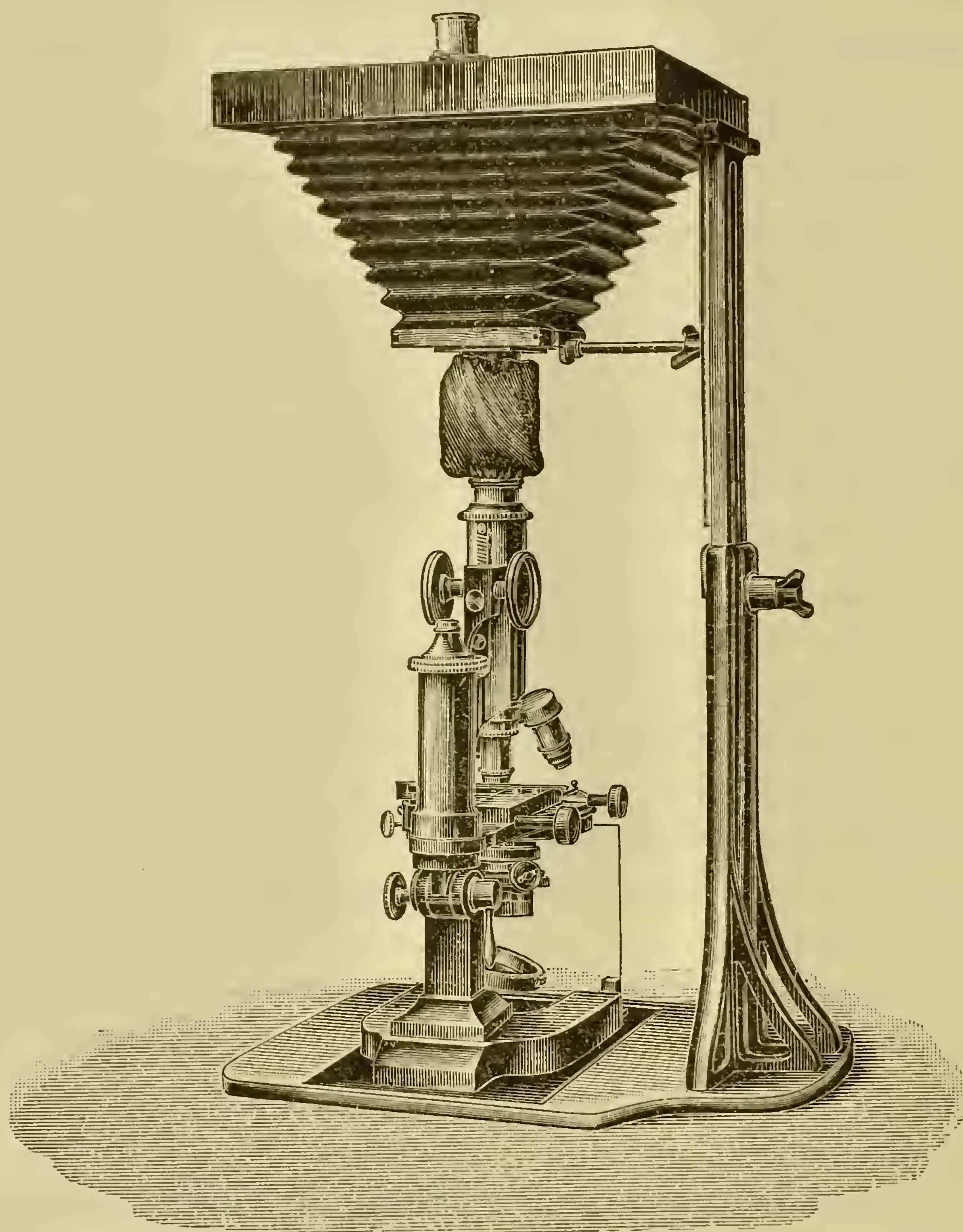


Fig. 92. Petit appareil microphotographique (de Leitz, à Wetzlar).

rapport avec le grossissement du système optique. Pour connaître celui-ci pour un oculaire et un objectif donnés, il suffit, une fois pour toutes, de déterminer le rapport du grossissement avec le secours d'un micromètre à objectif observé avec un micromètre à oculaire. On amènera la proportion du grossissement à un rap-

port simple, en allongeant plus ou moins le tube à tirage gradué et en notant le degré du tirage. Une fois ceci fait, il sera facile de dresser une tabelle des grossissements que l'on n'aura plus qu'à consulter quand on voudra faire une mensuration microscopique.

On peut aussi faire les mensurations avec le concours de la chambre claire à dessiner et d'un porte-objet à micromètre, dont on rapporte les divisions à celle d'une règle graduée.

Les mensurations microscopiques s'expriment d'ordinaire en millièmes de millimètre ou mucron, qu'on exprime par la lettre grecque μ.

Nous avons démontré dans un mémoire spécial que les mensurations microscopiques sont souvent gravement entachées d'erreur. Voir à ce sujet ce que nous disons à propos des mensurations des globules rouges du sang (voyez : *Sang*).

———

On peut exécuter des dessins *à main levée*. C'est un exercice excellent et que nous ne saurions que conseiller vivement aux élèves. Le dessin, sous forme de croquis rapide, constitue une variété très précieuse du langage graphique, pour noter ou pour exprimer rapidement sa pensée.

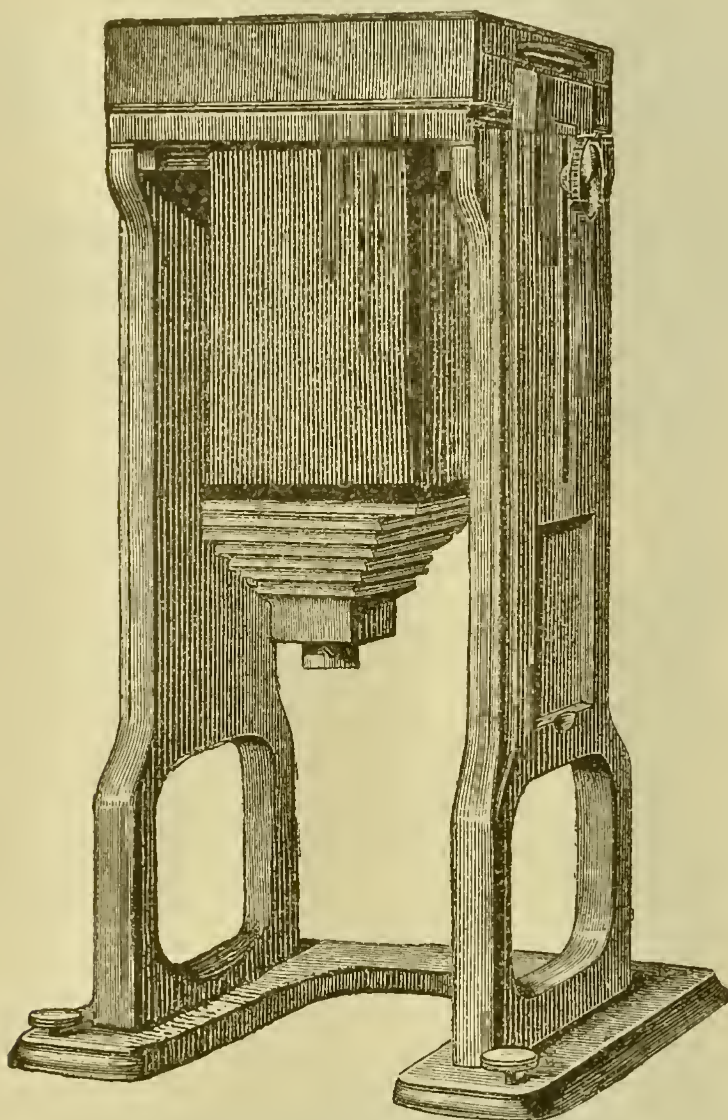


Fig. 93. Petit appareil pour la microphotographie (de Zulauf & C°, à Zurich).

Lorsqu'on voudra avoir des contours précis, on recourra à la chambre claire. Il en existe plusieurs modèles (fig. 19 à 24) plus ou moins commodes à manier.

Dans toutes les chambres claires, le principe fondamental consiste à ramener ensemble et à superposer dans l'œil, par un artifice d'optique, l'image de la préparation et celle du papier à dessin, de façon à ce que la pointe du crayon ait l'air de suivre directement les contours de l'objet à dessiner. Du plus au moins, la plupart des chambres claires ont le défaut de ne pas faire voir, nettement et à la fois, la pointe du crayon et le contour de la préparation. On ne peut guère d'ailleurs, avec ces instruments, établir que l'esquisse; les détails et les ombres devront toujours être dessinés à main libre. Voir, pour compléter ce que nous venons de dire, p. 3 et 4 et *Appendice :* reconstruction graphique.

La photographie microscopique est appelée également, quand elle sera devenue d'un maniement plus commode et moins coûteux, à rendre de grands services dans cette direction.

Un grand nombre d'instruments ont été créés ces dernières

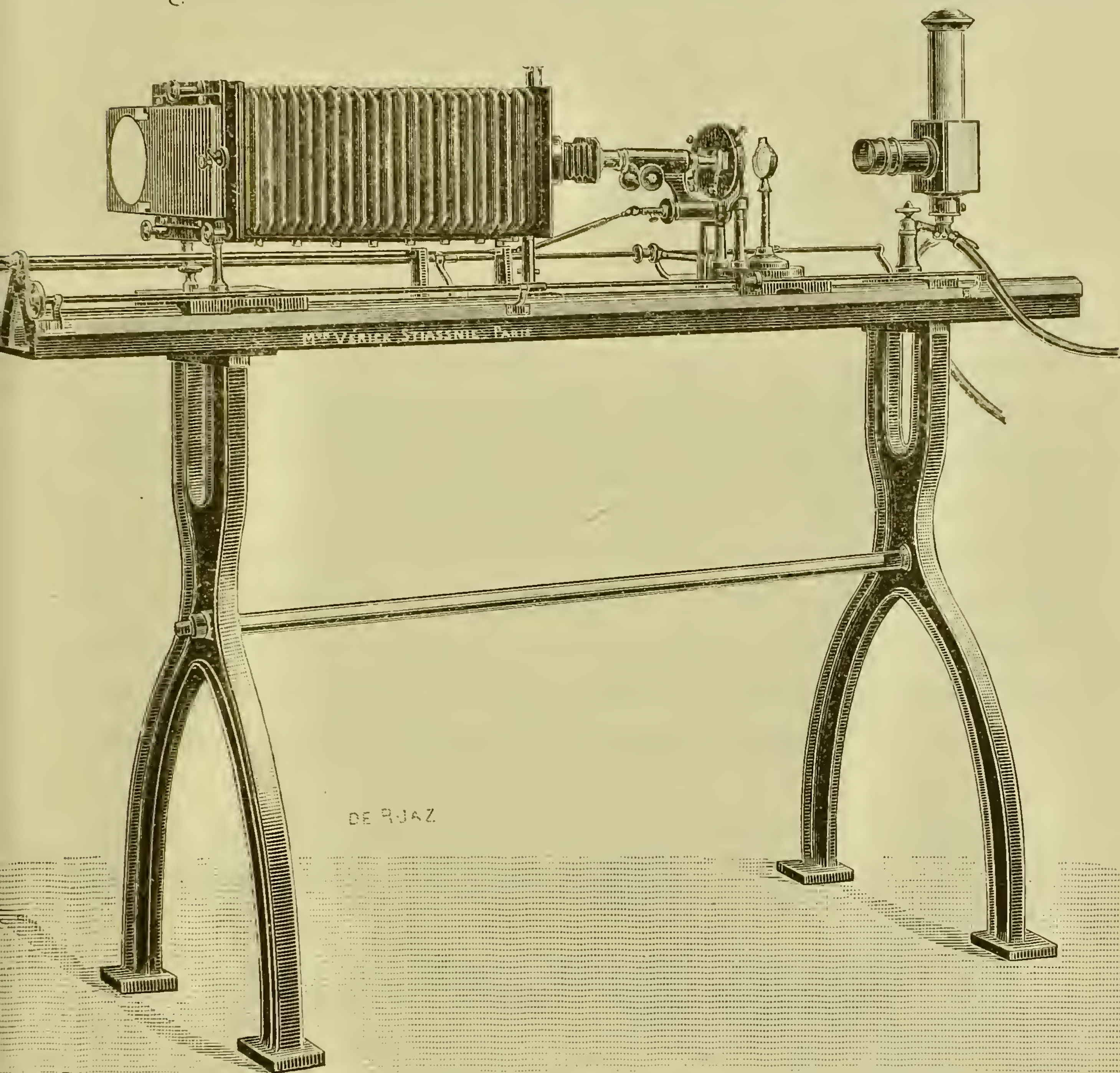


Fig. 94. BANC MICROPHOTOGRAPHIQUE (de Strassnie, succ. de Vérick).

années, pour permettre la photographie au microscope (fig. 92, 93 et 94).

Notre *appareil photographique universel* (fig. 131 à 137) est calculé de façon à exécuter aussi les autres opérations de photographie ordinaire et de laboratoire.

QUATRIÈME PARTIE

LA CELLULE EN GÉNÉRAL

La cellule est l'élément fondamental, la vraie unité anatomique et physiologique de l'économie. Virchow a comparé ingénieusement l'être organisé à un *État,* dont les cellules seraient les citoyens. On peut dire, d'une manière générale, qu'en négligeant certaines réactions chimiques accessoires, la somme des fonctions de l'organisme est égale à la somme des fonctions des cellules qui le composent. Il y a donc un intérêt capital à s'enquérir attentivement des propriétés de l'élément cellulaire ; étude des plus compliquées, qui, de tout temps, a intéressé l'histologiste et qui, malgré cela, est encore trop peu avancée.

Essayons néanmoins de faire un tableau très succinct de ce que nous savons de positif sur ce sujet.

SCHÉMA GÉNÉRAL DE LA CELLULE

Il a beaucoup varié suivant les époques ; il est destiné à varier encore plus avec le temps.

1° Propriétés morphologiques générales.

Découverte d'abord chez les plantes, la cellule fut décrite comme étant creuse ; de là, les termes encore employés d'*utricule,* de

vésicule, de *cellule.* Plus tard, examinée dans les animaux, on lui reconnut l'existence d'un contenu plus ou moins solide ; de là, les dénominations de *globule, de corpuscule.* Les recherches des histologistes de la première moitié du siècle, ont démontré que toute cellule se compose, en principe : *a.* d'un *protoplasma, b.* d'un *noyau.* Ces parties sont considérées comme absolument indispensables pour constituer un élément complet, et jouissant de toutes ses propriétés.

Le PROTOPLASMA (cytoplasma, plasma cellulaire, sarcode, etc.) se présente, à une observation superficielle, sous forme d'une substance molle, grisâtre, d'aspect finement granuleux, et qui peut renfermer accidentellement des substances incluses de différentes natures : granulations, gouttelettes, pigments, etc.; ou bien être creusée d'excavations : vacuoles. Dans quelques cas, le protoplasma est entouré d'une *membrane*, qu'on a considérée, pendant longtemps, comme indispensable.

L'examen de la structure fine du cytoplasme a démontré qu'il serait composé :

a. D'un *réticule*, à mailles de dimensions variables, mais toujours très fines, orientées parfois radiairement par rapport à la cellule et formées par une substance qui semble être de la *plastine,* matière qui résiste énergiquement à la plupart des réactifs : comme l'eau, l'alcool, l'éther, l'acide chlorhydrique, les alcalis, etc. Ce réticule (reticulum, mitom de Flemming) peut, semble-t-il, se condenser parfois à la périphérie de la cellule, et constituer alors la *membrane* cellulaire propre.

b. D'un *liquide fondamental* (enchylème, masse interfilaire, paramitom de Flemming) renfermant de l'eau en grande quantité, des sels et des albumines à composition chimique très instable, très labile.

c. De *granulations élémentaires* (microsomes) très fines, et qui, vues à de forts grossissements, présentent une scintillation particulière, aussi longtemps que la cellule est vivante.

d. De *sphérules,* dont la présence est révélée par l'application de certains réactifs.

Le *centrosome,* se présente généralement sous la forme d'un corps de forme arrondie, entouré parfois de couches concentriques et sur la nature chimique duquel on discute encore. Les histologistes sont loin d'être d'accord sur la constance de sa présence, beaucoup d'entre eux sont enclins à admettre qu'il ne fait son apparition que lorsque la cellule va se diviser.

Le NOYAU (nucléus) a une structure complexe, variant beaucoup suivant les périodes de fonctionnement de la cellule. Examiné superficiellement, le nucléus semble avoir un aspect vésiculeux et posséder un contenu liquide parsemé de fines granulations ; on y voit en outre un ou des nucléoles, auxquels les anciens histologistes attribuaient une grande importance.

Etudié avec les ressources de la microscopie moderne, le noyau présente à considérer les parties suivantes :

a. Un *réticule,* analogue à celui du protoplasma ; mais plus difficile à voir, ses mailles étant presque toujours très fines. Quelquefois ce réticule se condense à la périphérie et dessine alors une sorte de *membrane nucléaire.* Celle-ci a été attribuée par quelques histologistes au protoplasme, ainsi que la membrane propre, décrite plus haut.

b. Un *suc fondamental* (enchylème nucléaire), de propriétés sans doute voisines de celles du liquide protoplasmique. Parfois ce suc est parsemé de *granulations* très délicates.

c. L'*élément nucléinien,* formé par une substance particulière : la *nucléine* (chromatine de Flemming), qui a la propriété de gonfler sans se dissoudre dans l'eau, et qui est soluble dans les alcalis même dilués. Une fois coagulée par les acides, la nucléine fixe très facilement les colorations ; particulièrement les couleurs d'aniline acides, le carmin à l'alun, etc. Cette substance présente des formes et des apparences très diverses, surtout dans la période

de reproduction cellulaire : tantôt c'est un réseau anastomosé ; tantôt c'est un filament enroulé sur lui-même ; tantôt, enfin, c'est un boyau d'apparence continue ou paraissant formé de granulations, de sphérules accolées ensemble. La quantité de nucléine varie beaucoup, suivant l'état de nutrition de la cellule.

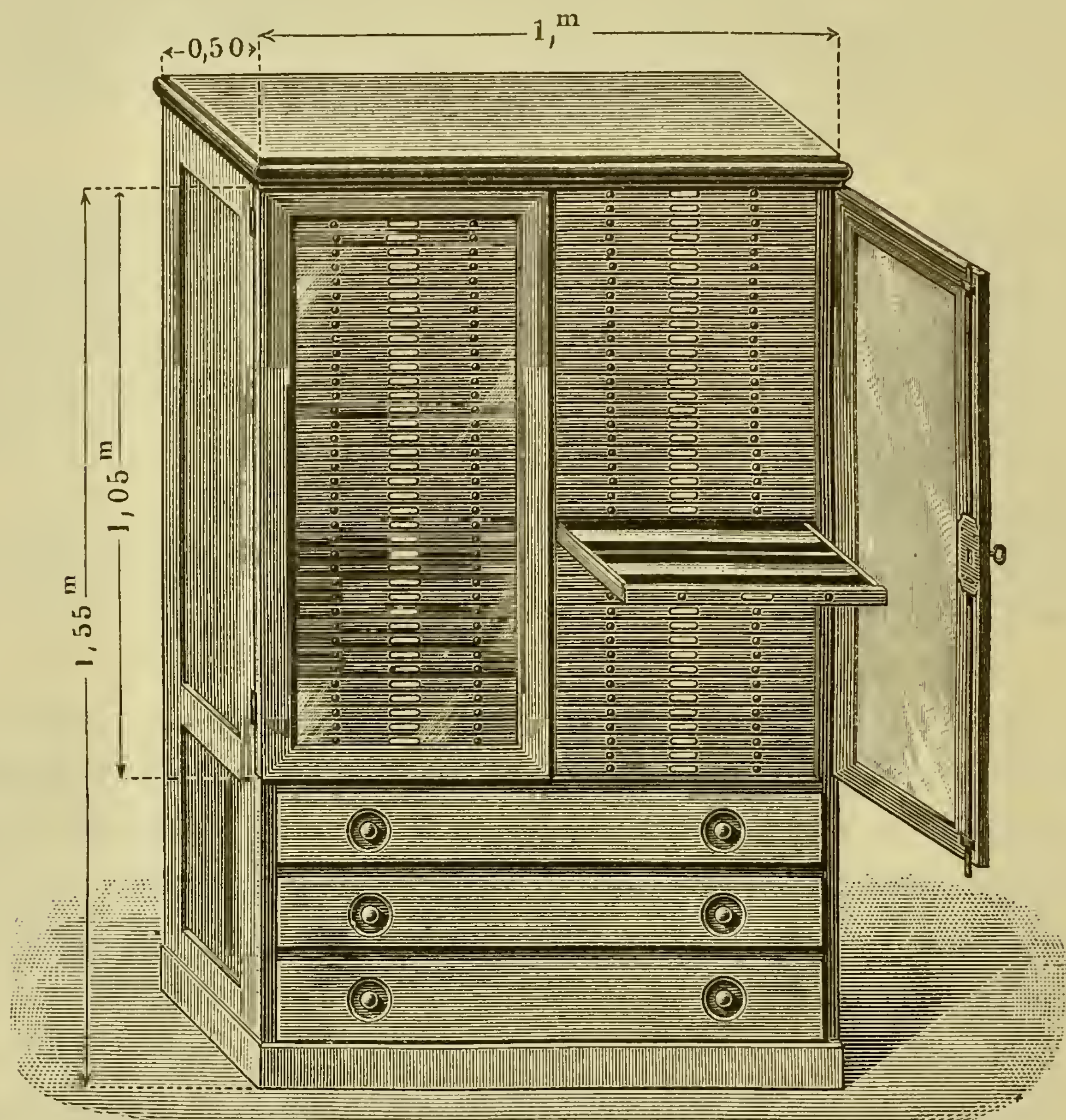


Fig. 95. Armoire a préparations microscopiques (de l'auteur).

d. Le ou *les nucléoles,* dont la présence est loin d'être constante. Ils ne semblent pas toujours formés de la même matière : le plus souvent c'est de la nucléine; parfois ce sont d'autres matières albuminoïdes, telles que la paranucléine.

Voilà en résumé les principaux caractères généraux de la cellule, qu'on retrouve partout dans l'organisme, avec des modifications plus ou moins profondes.

Presque toujours, l'élément cytologique est surchargé ou entouré de *parties accessoires* (vacuoles, enclaves, inclusions, membrane externe, substance fondamentale, etc.), qui, dans chaque cas, lui confèrent une physionomie spéciale.

2° Propriétés physiologiques générales de la cellule.

En principe chaque cellule possède constamment les propriétés physiologiques fondamentales, sans lesquelles elle ne saurait vivre. Cela est frappant surtout dans les premiers temps de l'existence des éléments. Mais, bientôt, une partie de ces propriétés générales tendent à s'effacer, tandis que d'autres s'exagèrent; et ainsi prennent naissance la *spécialisation* anatomique et l'*adaptation* physiologique, qui permettent à la subdivision du travail de se faire sentir. Dans l'organisme (État cellulaire) la cellule (citoyen) a pris une fonction (profession) particulière. L'adaptation spéciale entraîne fatalement avec elle l'aliénation de l'indépendance; il y a *subordination* de l'élément devenu *sédentaire* (c'est un citoyen établi). Ainsi seulement, peuvent, par les progrès du développement embryonnaire, s'édifier les organismes pluricellulaires complexes, dont la série est couronnée par l'organisme humain.

Les *propriétés physiologiques* générales de la cellule peuvent être rangées sous les chefs suivants :

a. Motilité (contractilité).

b. Excitabilité (irritabilité).

c. Nutrilité (échanges avec le milieu ambiant). Cette dernière comprend aussi la *reproduction*.

Enfin, quand il ne peut plus se reproduire, l'élément cytologique termine sa carrière par la *mort*.

MANIFESTATIONS ET MODIFICATIONS PHYSIOLOGIQUES GÉNÉRALES DE L'ÉLÉMENT CELLULAIRE

Elles sont extrêmement étendues et en corrélation intime les unes avec les autres, en sorte qu'il est très difficile de les classer d'une manière absolument satisfaisante. Pour la commodité, nous introduirons des divisions artificielles, sur la bonté desquelles nous ne nous faisons d'ailleurs aucune illusion.

A. Modifications morphologiques.

Elles peuvent être partielles ou totales.

Variations de volume. Quand on parcourt l'échelle des êtres organisés, on trouve que les éléments cellulaires n'ont pas de dimensions uniformes : certaines cellules embryonnaires arrivent à 4-6 millièmes de millimètres ; celles des glandes salivaires, chez quelques insectes, vont jusqu'à 200 millièmes de millimètre ; l'on voit des organismes unicellulaires, comme les grégarines, atteindre même 1,5 millimètre de diamètre ; enfin, certains œufs méroblastiques, formés en principe d'une cellule, comme le jaune d'œuf de la poule, peuvent dépasser plusieurs centimètres de diamètre. L'augmentation de volume semble porter plus volontiers sur le protoplasma que sur le noyau ; cependant les dimensions de ce dernier ne sont pas aussi constantes qu'on l'avait d'abord supposé. Quelquefois, comme dans les cellules nerveuses centrales, l'on voit aussi le nucléole prendre des proportions notables. Il ne faut pas confondre les augmentations réelles du

volume cellulaire avec certains *changements de forme,* l'aplatissement par exemple ; ici l'augmentation n'est qu'apparente, puisqu'elle a lieu seulement dans deux directions de l'espace.

Il est bon toutefois de faire remarquer que, pour chaque sorte de tissu, les cellules gardent des dimensions plus ou moins fixes. Les causes qui règlent le volume cellulaire ne sont pas encore bien précisées.

Augmentations du nombre des parties. Elles portent essentiellement sur les noyaux et les nucléoles. Dans la règle avons-

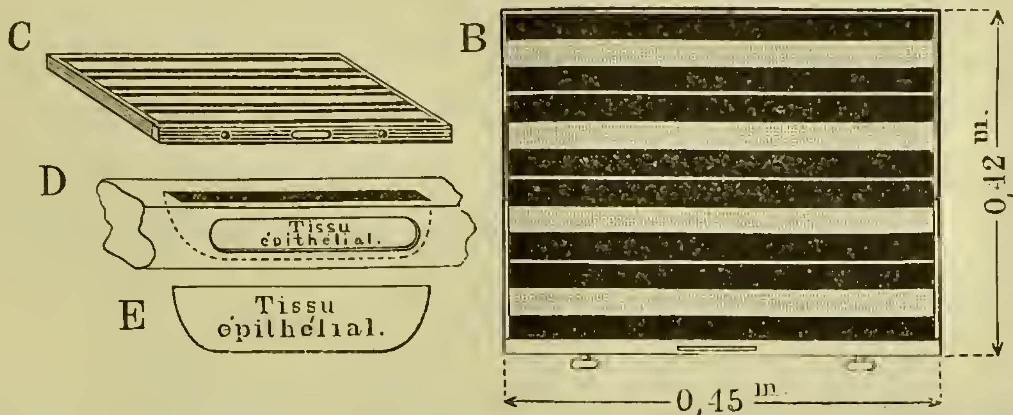


Fig. 96.
C Détails du tiroir de l'armoire à microscopie (voy. fig. 95).
D Détails de l'entaille permettant de mettre et de changer facilement l'étiquette.
E Etiquette.

Fig. 97.
Un des tiroirs de l'armoire à microscopie, avec des bandes blanches et noires pour rendre plus visibles les préparations et l'écriture au diamant.

nous dit, chaque cellule a un seul noyau et un seul nucléole. Mais on rencontre fréquemment des éléments binucléaires (cartilages) et même polynucléaires (cellules géantes de la moelle osseuse, du placenta). La présence de cellules polynucléaires dans un tissu est généralement considérée comme un signe de croissance active ; toutefois ceci souffre de nombreuses exceptions. Les variations de nombre des nucléoles ne paraissent pas avoir une grande importance. Au moment de la reproduction cellulaire il peut y avoir augmentation du nombre des centrosomes.

Disparition de certaines parties. Le nucléole manque souvent. Le noyau et le protoplasma, au contraire, font rarement défaut. La présence de ces derniers est, du reste, indispensable au

fonctionnement intégral de la cellule. Tout élément qui est dépourvu d'une de ces parties fondamentales, doit être considéré comme étant voué à une destruction prochaine.

Longtemps on admit l'existence de *noyaux libres* (cellules sans protoplasme) dans l'organisme ; on prenait pour base les idées de Schwann (blastème), et on leur assignait un rôle capital dans la genèse cellulaire. Ces données reposaient sur des observations incomplètes ou mal interprétées. Quant aux cellules sans noyau, elles sont plutôt rares (cellules épithéliales cornées) ; elles ont alors perdu définitivement la propriété capitale de se reproduire.

Additions de parties accessoires. Nous les avons déjà signalées plus haut : il s'agit de la *capsule,* du *vitellus,* des *vacuoles,* etc., etc. Nous n'y reviendrons pas. Il peut y avoir aussi apparition transitoire du centrosome, d'irradiations protoplasmiques, de fuseaux achromatiques.

Changements de forme. Les éléments cellulaires prennent les figures les plus diverses. Les *compressions* mutuelles, les *tractions*, amenées par des inégalités de croissance, l'*évaporation* au niveau des surfaces libres (peau, muqueuses), ainsi que des changements, souvent difficiles à préciser, dans les conditions de nutrition, sont les causes principales de ces changements de forme.

Les formes cellulaires ainsi produites ont reçu dans le langage histologique, une dénomination spéciale. On distingue les formes principales suivantes : *arrondie* ou *indifférente* (cellules embryonnaires, par ex.), *aplatie* (épithéliums superficiels de la peau), *discoïdale* (globules rouges du sang), *polygonale* (épithélium pulmonaire, endothèles), *en jeu de patience* (certains endothèles), *cubique* (caneaux droits du testicule), *polyédrique* (cellules hépatiques), *pyramidale* (canalicules urinifères), *cylindrique* ou *prismatique, avec* ou *sans plateau, avec* ou *sans cils vibratiles* (intestin), *unipolaire, bipolaire* ou *fusiforme, multipolaire* ou *ramifiée* (cellules nerveuses), *vésiculeuse* (cellules adipeuses), *caliciforme, en biscuit, irrégulière, géante,* etc., etc., etc.

Outre ces formes simples, il peut y avoir des *formes composées*

(dans les nerfs, les muscles, par ex.). Pendant longtemps celles-ci constituèrent un obstacle sérieux à l'admission rigoureuse de la *théorie cellulaire*. On peut dire que, maintenant, elles ont reçu toutes une explication satisfaisante ; il a été possible de retrouver toujours, à leur base, la cellule plus ou moins modifiée.

B. Modifications bio-chimiques.

Encore mal connues, elles font actuellement l'objet de recherches étendues, et, malgré cela, c'est à peine si on en a déterminé les
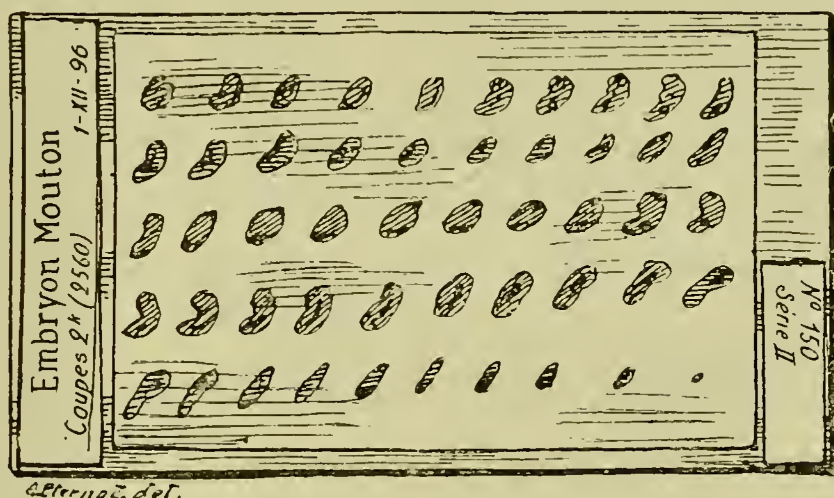


Fig. 98. Porte-objet avec coupes montées en série (dessin de l'auteur).

plus évidentes. Elles peuvent être rangées sous les trois chefs suivants :

a. Modifications intimes. Elles doivent résulter du fonctionnement intérieur de la cellule. Pflüger, admettait que l'élément cèllulaire renfermerait des composés dérivés du *cyanogène*. Bokorny et Lœw pensaient que ce seraient des *aldéhydes*. Ces savants, ainsi que la plupart des histologistes modernes, trop longs à énumérer et qui se sont occupés de cette question, sont généralement d'accord pour admettre que le fonctionnement cellulaire est la résultante directe de changements rapides, survenant dans la formule chimique de certains corps très instables, très labiles. Il est certain que les recherches récentes démontrent une grande différence de composition chimique entre la *cellule vivante* et la

cellule morte. La tâche de l'avenir sera de préciser toujours plus ces changements d'ordre bio-chimique.

b. Modifications partielles apparentes. La cellule peut se charger de différentes matières, provenant soit du dehors, soit de l'intérieur même de l'élément. C'est ainsi qu'on peut voir des *pigments* variés s'accumuler, en plus ou moins grande quantité dans le protoplasma, jamais dans le noyau (?). Chez les animaux, la couleur des pigments est très diverse suivant les espèces; chez l'homme, elle est très peu variable et va simplement du brun jaunâtre au noir foncé. Dans ce dernier cas, les teintes semblent produites par une seule et unique substance, plus ou moins abondante et parfaitement isolable : la *mélanine*. On trouve cette matière principalement dans la peau des nègres, la choroïde, certaines cellules nerveuses, etc.

Des produits, autres que les pigments proprement dits, peuvent aussi s'accumuler dans la cellule : ainsi, par exemple, la *graisse* dans les cellules adipeuses, le *mucus* dans les cellules caliciformes, le *glycogène* dans les cellules hépatiques, etc. Parfois même il se peut, quoique rarement, que la substance emmagasinée dans la cellule prenne franchement une *forme cristalline* (hématoïdine, par ex.). Il ne faut pas oublier toutefois que certaines cristallisations ont lieu *post mortem* seulement ; c'est le cas, entr'autres, des aiguilles qui se forment sans cause connue, dans les cellules adipeuses (margarine ?).

c. Modifications totales. Elles ont pour conséquence d'entraîner la mort et la destruction plus ou moins complète de la cellule. C'est ce qui a lieu, par exemple, pour les transformations en *graisse*, en *kératine*, en *myéline*, en substance *amyloïde* et peut-être aussi en matière *colloïde*.

MODIFICATIONS SPÉCIALES DES PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES

Elles s'accompagnent de changements physiques et chimiques plus ou moins étendus.

En vertu de la spécialisation ou adaptation, avons-nous dit plus haut, la cellule voit s'amoindrir compensatoirement une partie de ses fonctions, à mesure que s'accentuent et se perfectionnent les autres fonctions. Ainsi prennent naissance des représentants anatomiques accentués de chaque fonction principale. Exemples :

a. Spécialisation de la motilité : fibre musculaire, cellule à cils vibratiles, spermatozoïde, etc.

b. Augmentation de la sensibilité : cellules nerveuses, sensorielles, spéciales, etc.

c. Exaltation des propriétés d'excrétion : cellules glandulaires, etc.

d. Exagération de la respiration : globules rouges du sang, épithélium pulmonaire, etc.

On pourrait multiplier à l'infini ces exemples, sans épuiser le sujet. Ceux que nous avons donnés suffisent à illustrer clairement l'idée féconde de la spécialisation physiologique. Les éléments *spécialisés* sont en général adultes et sédentaires ; mais, sous l'influence de l'irritation, normale ou artificielle, l'élément cellulaire peut revenir en arrière et récupérer ses *caractères embryonnaires.* D'un citoyen établi et ayant une profession fixe qu'elle était, la cellule peut redevenir un personnage *sans aveu,* dangereux pour l'économie (les globules pyogènes, par exemple).

Reprenons en détail les propriétés physiologiques de l'élément fondamental, en tenant compte des modifications qu'il peut subir

(exaltation, abaissement compensatoires). Ce sont les mêmes que nous avons déjà citées à propos du schéma cellulaire.

1° Motilité ou contractilité.

Toute cellule embryonnaire présente des phénomènes de motilité plus ou moins étendue. Ces phénomènes peuvent s'exagérer ou disparaître par les progrès du développement. La contractilité

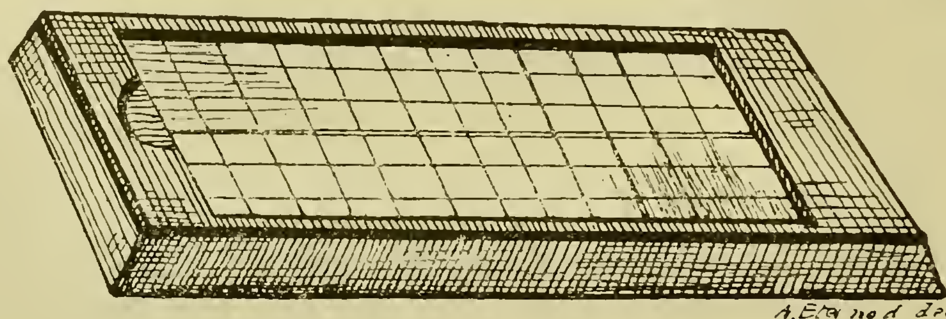


Fig. 99. Petit appareil destiné a faciliter l'alignement en série des coupes (de l'auteur, d'après un de ses dessins).

cellulaire peut être dépendante ou indépendante de l'influence directrice du système nerveux.

On peut observer :

a. Le *mouvement intime* qui se traduit à de forts grossissements par une sorte de trépidation, de vibration très délicate des granulations protoplasmatiques. Cette agitation spéciale des microsomes, qui cesse complètement à la mort de la cellule et qui ne doit pas être confondue avec le mouvement dit *brownien,* n'a pas encore reçu d'explication satisfaisante.

b. Les *translations intérieures* de la masse protoplasmatique. Elles deviennent appréciables par les déplacements que subissent les grosses granulations (pigments, corps étrangers) situées dans le sarcode ; pendant qu'elles ont lieu, le contour extérieur de la cellule peut se maintenir sans changement de forme notable. Le mouvement est donc purement intérieur.

c. *Les mouvements amœboïdes* ou *sarcodiques* sont de même nature que ceux que font les amœbas. La cellule (le globule blanc, par ex.) prend successivement les formes les plus bizarres et envoie des prolongements dans tous les sens, elle rampe, elle s'allonge, elle redevient sphérique, pour recommencer, bientôt, à se mouvoir. Ces mouvements sont en général très lents ; leur intensité est en rapport direct avec l'élévation de la température ambiante et avec le degré d'excitation de la cellule.

d. *Les mouvements spéciaux*, n'ont lieu que dans un protoplasme doué d'une organisation particulière et qui soit capable d'exécuter alors une fonction physiologique déterminée, comme la contraction, la vibration, la flagellation, etc. Leur intensité, comparée à celle des mouvements prédédents, est colossale, soit en ce qui concerne la force développée, soit en ce qui a trait à la rapidité d'exécution. Cela ressort clairement de l'étude du fonctionnement des fibres musculaires et des cellules à cils vibratiles.

2° **Excitabilité** (sensibilité ou irritabilité).

Elle existe toujours, mais à des degrés variables, dans toute cellule vivante. Les moyens que nous avons jusqu'à présent de la reconnaître et de la mesurer sont malheureusement très limités. Ce n'est guère que dans les éléments cytologiques doués de *propriétés motrices* étendues, tels que les leucocytes, les fibres musculaires, les épithéliums à cils vibratiles, ainsi que dans quelques cellules glandulaires, qu'on a pu l'étudier avec un peu d'exactitude. Le même excitant agit d'une manière bien différente suivant la façon dont on l'applique : à *faible dose*, il produit peu d'effet ; à *dose plus forte*, il active très notablement les fonctions physiologiques de la cellule ; enfin, *à dose plus élevée* encore, il attaque profondément et peut même tuer les éléments.

On classe les *excitants* en différentes catégories :

a. Excitants d'ordre physique. Ce peuvent être des *actions mécaniques* directes, telles que chocs, pressions, etc. Ou bien l'élévation de la *température,* dans laquelle le maximum d'excitation est produit vers 35-40° ; et la mort a lieu, généralement, vers 45°. Ou bien la *lumière :* c'est la couleur bleue et les ultra-violets qui semblent produire le plus d'effet. Ou bien *l'électricité :* courant constant, induction, décharge ; avant d'amener la mort, ce genre d'excitant provoque, parfois, dans la cellule une suractivité très curieuse du mouvement moléculaire. Ou bien, encore, l'action des *solutions* salines indifférentes et à divers degrés de *concentration :* elles produiront suivant les cas, un gonflement ou un ratatinement des éléments, en rapport surtout avec des phénomènes d'endo- et d'exosmose.

b. Excitants d'ordre chimique. Certaines substances sont *indifférentes* et n'agissent que par leur concentration, c'est-à-dire comme des excitants d'ordre physique. D'autres au contraire, et c'est le plus grand nombre, ont par elles-mêmes une action plus ou moins marquée, *sui generis,* et c'est leur composition chimique qui semble entrer en jeu. Toutes finissent par avoir un effet toxique.

La dose nécessaire varie beaucoup d'une substance à l'autre.

L'*eau distillée* est un poison violent, tandis que mélangée, dans de certaines proportions, avec d'autres matières non nuisibles, elle constitue un milieu favorable à la conservation de l'intégrité des cellules : c'est sur ces données que repose la confection de certains *liquides additionnels* et des *sérums artificiels*, d'un usage journalier si précieux.

Les *gaz* ont aussi des actions très importantes sur les éléments cellulaires ; ils jouent, du reste, un rôle capital dans les phénomènes dits de *respiration* cellulaire.

Beaucoup d'*acides,* à des doses modérées, coagulent le protoplasma, en lui conservant plus ou moins bien sa forme ; ils sont employés comme *réactifs fixants.* — Les *alcalis* et les *acides,* à dose *concentrée,* finissent par dissoudre tout, avec une rapidité variable pour chaque partie cellulaire et suivant le réactif

appliqué ; cette propriété a souvent été utilisée comme moyen d'investigation.

c. *Excitants d'ordre physiologique.* Ce sont normalement : l'*action nerveuse directe,* comme pour les muscles, et *indirecte*

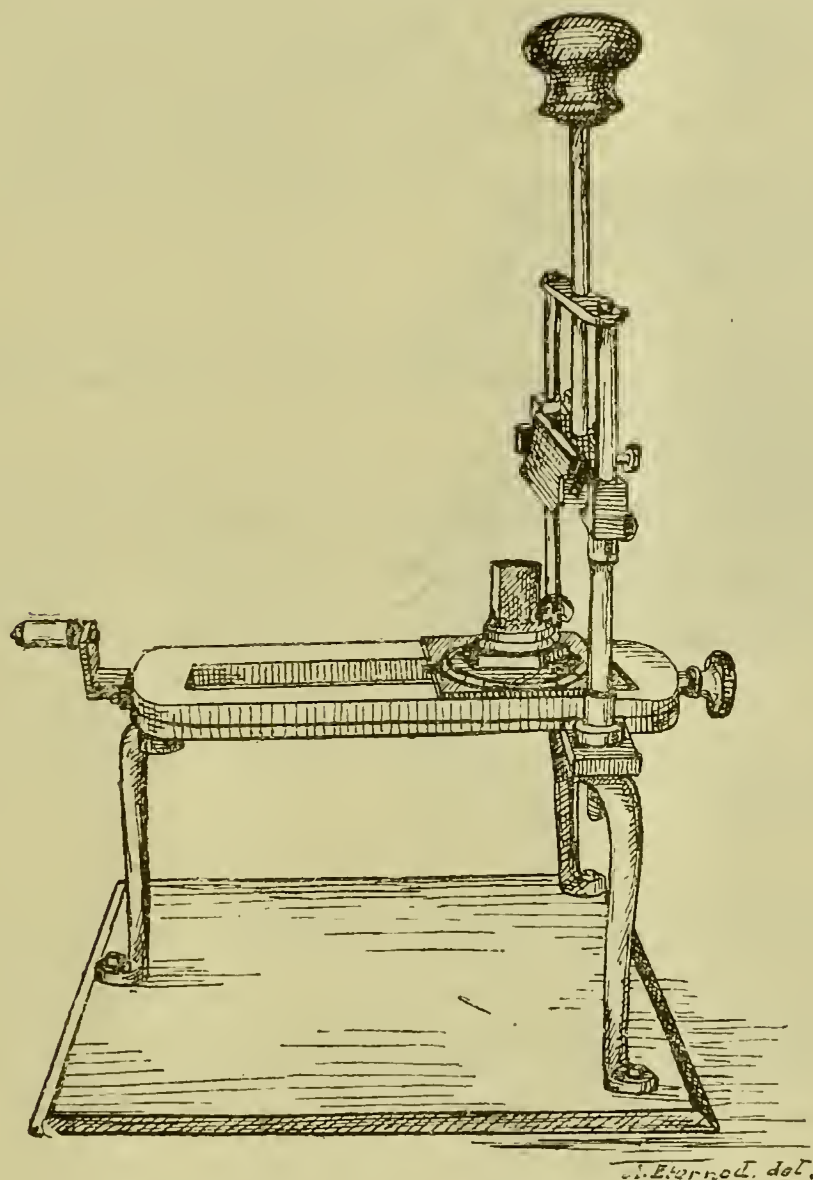


Fig. 100. Guillotine pour définir géométriquement les blocs de paraffine (de l'auteur, d'après un de ses dessins). Appareil fabriqué par M. E. Jaccard, sous-préparateur.

ou *trophique,* par l'intermédiaire de la circulation et des milieux environnants. Ce dernier genre d'excitants dépend aussi toujours, en dernier ressort, de l'action du système nerveux. L'étude des excitants physiologiques est importante à connaître pour le médecin, puisque c'est sur elle que sont basés, en définitive les moyens rationnels d'intervention thérapeutique.

Ajoutons encore que, plus on avance dans la science, plus on découvre une connexion intime entre les *excitants* d'ordre *physio-*

logique et *ceux d'ordre physico-chimique*. Jusqu'où cela va, c'est à l'avenir à le démontrer (problème philosophique du matérialisme et du spiritualisme).

En tous cas il est certain que chaque action vitale de l'organisme est constamment accompagnée de *changements physico-chimiques correspondants*. Y a-t-il *relation de causalité* ou simplement *corrélation entre* les phénomènes vitaux et les phénomènes physico-chimiques? C'est un problème insoluble dans l'état actuel de la science. Trouvera-t-il jamais sa solution ?

3° Nutrilité ou échanges avec le milieu ambiant.

Si, d'un côté, la cellule absorbe et assimile les éléments nécessaires à son fonctionnement, de l'autre côté, elle désassimile et rejette les substances qui lui sont devenues inutiles. La plupart des échanges ont lieu par voie humide. Il y a lieu d'analyser séparément : l'*absorption*, la *sécrétion*, l'*excrétion* et la *respiration* cellulaires.

a. Absorption. N'a pas toujours lieu de la même manière. Tantôt ce sont des corps solides (poussières), qui sont pris directement par l'élément cellulaire faisant des mouvements amœboïdes ; tantôt, et c'est le cas le plus fréquent, ce sont des *solutions* de *sels*, ou même de *gaz*, qui pénètrent par endosmose. Le corps ainsi absorbé est quelquefois immédiatement transformé ; il y a donc, de suite, véritable digestion avec *assimilation* cellulaire. L'assimilation exagérée de certaines substances, occasionne dans la cellule des dépôts (de gouttelettes, de granulations et de cristaux, etc.). Il y a, dans ces cas, véritable *emmagasinement*. Certains éléments, comme les cellules adipeuses, se spécialisent réellement de façon à constituer de vrais réservoirs alimentaires, vis-à-vis de la collectivité cellulaire.

b. Elaboration (sécrétion, excrétion). Les produits que la cellule excrète devront, dans la règle, être éliminés de l'économie ; parfois

cependant ils y resteront et iront jouer un rôle spécial, nutritif ou autre, vis-à-vis des éléments voisins. Ces données sont à la base de l'*organothérapie* et de l'*opothérapie* modernes. Parmi les produits éliminés, les uns sont essentiellement des produits d'*excrétion* ou *excrémentitiels* (urée, etc.) ; les autres sont plutôt des produits de *sécrétion* cellulaire ou *récrémentitiels*. Il est, du reste, très difficile de tracer une limite exacte entre ces deux groupes. Souvent la cellule élabore, sécrète autour d'elle des *membranes*, des *capsules* et des *substances fondamentales*, en plus ou moins grande abondance.

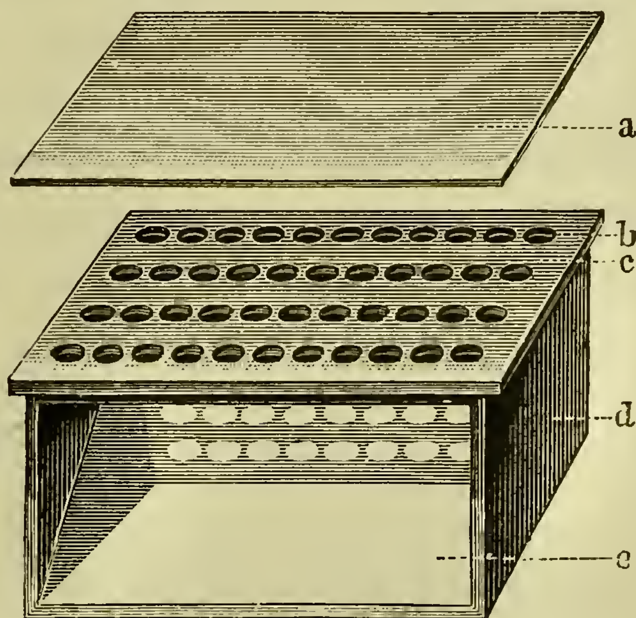


Fig. 101. Godet a cases multiples et transparentes.

a Couvert à surface rodée, procurant une fermeture hermétique quand il est appliqué sur le godet.
b Godet à surface également rodée.
c Cases à fonds transparents.
d Appareil à miroir incliné, pour éclairer les cases par dessous.
e Miroir du dit.

Les sécrétions, telles que les décrivent les physiologistes, ne sont pas toujours la résultante directe et nécessaire de la somme des sécrétions cellulaires. En effet, on peut distinguer, en *physiologie macroscopique*, trois modes principaux de *sécrétion* : premièrement, celle par *filtration*, ou par *élection* dans laquelle la cellule dite sécrétante n'est qu'un lieu de passage ; secondement, celle *par élaboration*, dans laquelle la cellule sécrète réellement : troisièmement, celle *par destruction cellulaire*, dans laquelle les éléments eux-mêmes se désagrègent, après avoir subi des modifications plus ou moins profondes pour fournir le produit sécrété. De là, la distinction, que l'on fait actuellement, des glandes en : *mérocrines* et *holocrines*.

c. *Respiration*. Depuis longtemps on est arrivé à la conclusion que chaque élément cellulaire *respire* pour son compte, en absorbant de l'oxygène et en rejetant de l'acide carbonique. Cela est

très facile à démontrer, en opérant, au moyen du porte-objet à gaz (fig. 66), sur des éléments cellulaires isolés, vivants, et doués de motilité : sur les globules blancs, ou sur les cellules à cils vibratiles, par exemple.

Au point de vue philosophique, la circulation sanguine et les trachées des insectes, doivent être considérées comme des perfectionnements de l'économie, en relation directe avec la spécialisation des cellules ; celles-ci devenues *sédentaires,* ne peuvent *plus chercher directement* elles-mêmes dans le milieu ambiant immédiat les substances qui leur sont nécessaires, plus particulièrement l'oxygène. Chacun sait le rôle capital que les oxydations jouent dans les phénomènes vitaux.

4° Origine et reproduction de la cellule.

La reproduction cellulaire est un acte nutritif au premier chef ; c'est même, pourrait-on dire, l'acte nutritif le plus parfait auquel nous puissions assister.

Nous laissons complètement de côté le problème de l'*origine primordiale* de la cellule, estimant que, dans l'état actuel de nos connaissances, cette question est non seulement insoluble; mais qu'il y aurait un véritable danger scientifique à la trancher d'une manière prématurée, comme cela a été tenté, malheureusement, par des naturalistes de renom.

Depuis que *filiation cellulaire continue,* comme le seul moyen de *propagation* et de *perpétuation vitale* connu, a été admise par les histologistes, le problème de la *reproduction cellulaire* a acquis une grande importance; quoique poursuivi dès l'origine, avec beaucoup d'activité, ce chapitre de la biologie générale n'a été réellement bien approfondi que dans ces dernières années.

Avec Remak, on se contenta longtemps d'admettre comme classiques les trois modes de génération cellulaire suivants :

1° Par *scissiparité.*

2° Par *bourgeonnement.*

3° Par *génération endogène.*

Il faut dire que les moyens employés à l'étude de la génèse cellulaire étaient alors bien insuffisants ; la plupart des réactifs même étaient plutôt nuisibles à une bonne observation. Pour arriver à un résultat satisfaisant, il fallait en venir à l'*observation directe sur le vivant* et à la création de méthodes histologiques appropriées.

Les recherches nouvelles ont conduit avec rapidité à la découverte de toute une série de faits nouveaux, qui sont d'un grand intérêt, et qui ont fait entrevoir, d'une façon inattendue, une grande unité dans les modes de reproduction cellulaire. Si bien que beaucoup d'histologistes ont été même conduits à n'admettre en principe qu'une seule espèce de génèse cellulaire ; d'autres, plus réservés, pensent que, peut-être il y aurait deux types, que l'on a qualifiés de reproduction *directe* et *indirecte.*

a. — **Reproduction indirecte** (karyokinèse- ou caryocinèse, caryolyse, mitose).

C'est assurément le type le plus fréquent de cytodiérèse. Il a été retrouvé, non seulement dans toute la série animale, mais aussi chez les végétaux. La cellule passe par une série de *phases* très curieuses, dans lesquelles il apparaît, dans le noyau et dans le protoplasma, des figures plus ou moins compliquées : *figures karyokinétiques.*

Essayons d'en faire d'abord une description succincte. Nous prendrons comme type les cas les plus marqués, en introduisant un certain nombre de divisions, nécessairement artificielles ; puisque, en réalité, les différentes phases passent successivement de l'une à l'autre, par une série de transitions graduées et insensibles :

a. Première phase : période du repos. La cellule se comporte comme nous l'avons décrite plus haut, dans le schéma général

cellulaire (p. 109). Dans les organismes pluricellulaires, elle est alors, le plus souvent, sédentaire et a pris, par conséquent, une forme déterminée et, pour ainsi dire constante, pour chaque tissu.

b. Seconde phase : période du peloton primaire. Dans le noyau, la nucléine se condense et finit même par dessiner fréquemment un véritable filament enroulé sur lui-même et en peloton ; le nucléole disparaît. Dans le protoplasma il y a retour à l'état globuleux (type embryonnaire). Les microsomes s'orientent régulièrement et dessinent une figure, rayonnante, s'irradiant autour d'un centrosome unique. Dans quelques cas, plutôt rares, l'on peut voir cette orientation s'étendre à tout le protoplasma.

c. Troisième phase : période des étoiles mères. Le filament colorable de nucléine se divise bientôt en anses distinctes, qui tournent leurs extrémités libres dans tous les sens de l'espace vers la périphérie, et leur convexité vers le centre du noyau, en dessinant ainsi une véritable *figure rayonnante.*

Parfois on peut constater une phase intermédiaire entre celle du peloton et celle de l'étoile. On l'a désignée sous le nom de stade de la *couronne.* Elle consiste en une orientation hâtive du filament, avant la division en *anses distinctes* les unes des autres ; on obtient ainsi pendant quelque temps, des anses tournées alternativement vers la périphérie et vers le centre, sous forme d'une *ligne onduleuse* continue. Pendant que ceci s'opère, on voit dans le champ protoplasmique, le centrosome se dédoubler en deux *hémicentrosomes,* qui s'écartent et finissent par se cantonner en opposition, de façon à marquer deux *pôles cellulaires,* présentant chacun une *irradiation protoplasmique* distincte. Les radiations tournées vers le noyau deviennent plus apparentes et il apparaît souvent déjà des *filaments achromatiques,* non colorables.

d. Quatrième phase: période de la plaque équatoriale. Les extrémités libres des anses nucléaires s'infléchissent dans la direction de l'équateur de la cellule et forment une espèce de roue rayonnante qui coupe le noyau en deux hémisphères égaux. Ce mouvement des anses a reçu le nom de *systole.* A celle-ci ne tarde pas à succéder le *diastole,* qui est le retour à la forme en

étoile. Les systoles et les diastoles se répètent pendant un certain temps, jusqu'à ce que la systole persiste définitivement. A ce moment on peut apercevoir avec facilité les filaments achromatiques qui semblent tendus, sous forme de *fuseau*, d'un pôle à l'autre. Si l'on colore les cellules, la coloration prend sur les anses nucléaires, tandis que le fuseau reste incolore ; de là les dénominations de filaments *chromatiques*, pour les premières, et *achromatiques*, pour les secondes. Parfois les filaments chromatiques semblent se *dédoubler*, dans le sens de leur longueur.

Jusqu'à ce moment, nous avions un *centre unique* dans le noyau ; dès lors, il aura tendance à la production de *deux centres*, qui iront en s'*écartant* l'un de l'autre, dans la direction d'un des pôles cellulaires marqués par les *hémicentrosomes*.

Les anses nucléaires ou *chromosomes*, préalablement partagées

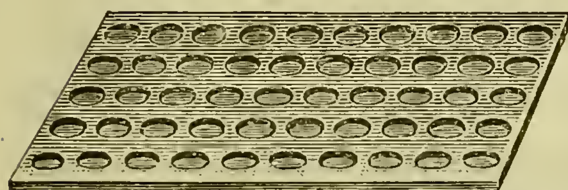


Fig. 102. Godet ci-dessus isolé. (Voir fig. 101.)
Ce godet a cinquante cases.

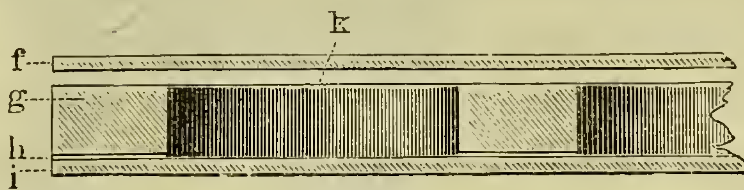


Fig. 103. Coupe d'une partie du godet ci-contre.
f Couvert en verre rodé.
g Plaque de verre épais, percée de trous pour former les cases.
h Ciment résistant aux réactifs.
i Fond du godet formé d'une lame de cristal, mince et transparente.

en long, se divisent en *deux groupes* qui glissent dans la direction des pôles, à mesure que les fils achromatiques se raccourcissent. Dans les phases suivantes, ce qui se passera autour de chaque nouveau centre de groupement sera la répétition, en *sens inverse*, de ce qui a lieu autour d'un centre primitif dans les phases précédentes.

e. Cinquième phase : période des étoiles filles. Après s'être suffisamment écartés, les deux *groupes nouveaux* de fils chromatiques, ou *hémichromosomes*, s'organisent *en étoile* autour de chaque nouveau centre. On peut même, dans quelques cas, assister à la reproduction du stade de la *couronne*. (Cette phase est la répétition de la troisième.)

f. Sixième phase : période des pelotons secondaires. Le protoplasma, jusqu'alors indifférent, commence à *s'étrangler ;* la cellule prend la forme *en biscuit.* Les filaments achromatiques et les hémicentrosomes restent toujours visibles. Parfois le nucléole apparaît à nouveau. (Cette phase répète en sens inverse la deuxième.)

g. Septième phase : repos. Le protoplasma achève de se *segmenter.* Nous avons ainsi *deux cellules,* au lieu d'une, qui ne tardent pas à prendre *une forme* et *des aspects spéciaux.* en rapport avec le tissu auquel elles appartiennent. Les microsomes reprennent leur disposition apparente *irrégulière,* les centrosomes deviennent souvent invisibles. (Cette phase répète la première.)

Telle serait, très rapidement esquissée, la reproduction cellulaire indirecte. Ajoutons que, pendant toute la période comprise entre les phases deux à six, les différentes modifications du noyau se passent dans une *zone* bien limitée, plus claire que le reste de la cellule et correspondant par ses dimensions, à l'espace occupé par l'ancien noyau. Il est très possible que, dans beaucoup d'observations anciennes de segmentation par scissiparité, l'on ait pris cette zone pour le noyau lui-même et les figures filles, dessinées par les chromosomes, pour des nucléoles.

Ajoutons encore que, dans la pratique, il n'est pas toujours possible d'observer sur le même objet tous les détails que nous venons de décrire. Cela tient, sans doute, à l'imperfection de nos moyens d'observation ; et aussi au fait qu'il y a en réalité des différences, aucun phénomène, pris en lui-même, n'étant essentiel et indispensable. Malgré ces nuances, les lignes générales n'en persistent pas moins, et c'est là l'important. Les principales variations semblent porter surtout sur la quantité de chromatine, qui paraît liée, ainsi que Brass a essayé de le démontrer, à l'état de nutrition du sujet. Parfois ce sont seulement les noyaux qui se divisent, tandis que le protoplasma reste *inactif ;* c'est ainsi que se forment les cellules polynucléaires.

Le temps qu'il faut à une cellule pour se reproduire est variable : il peut varier de quelques minutes à plusieurs heures, et même aller à plusieurs jours.

b. — **Reproduction directe** (acinétique, amitose). Il est possible que, dans certains cas déterminés, la cytodiérèse marche d'une

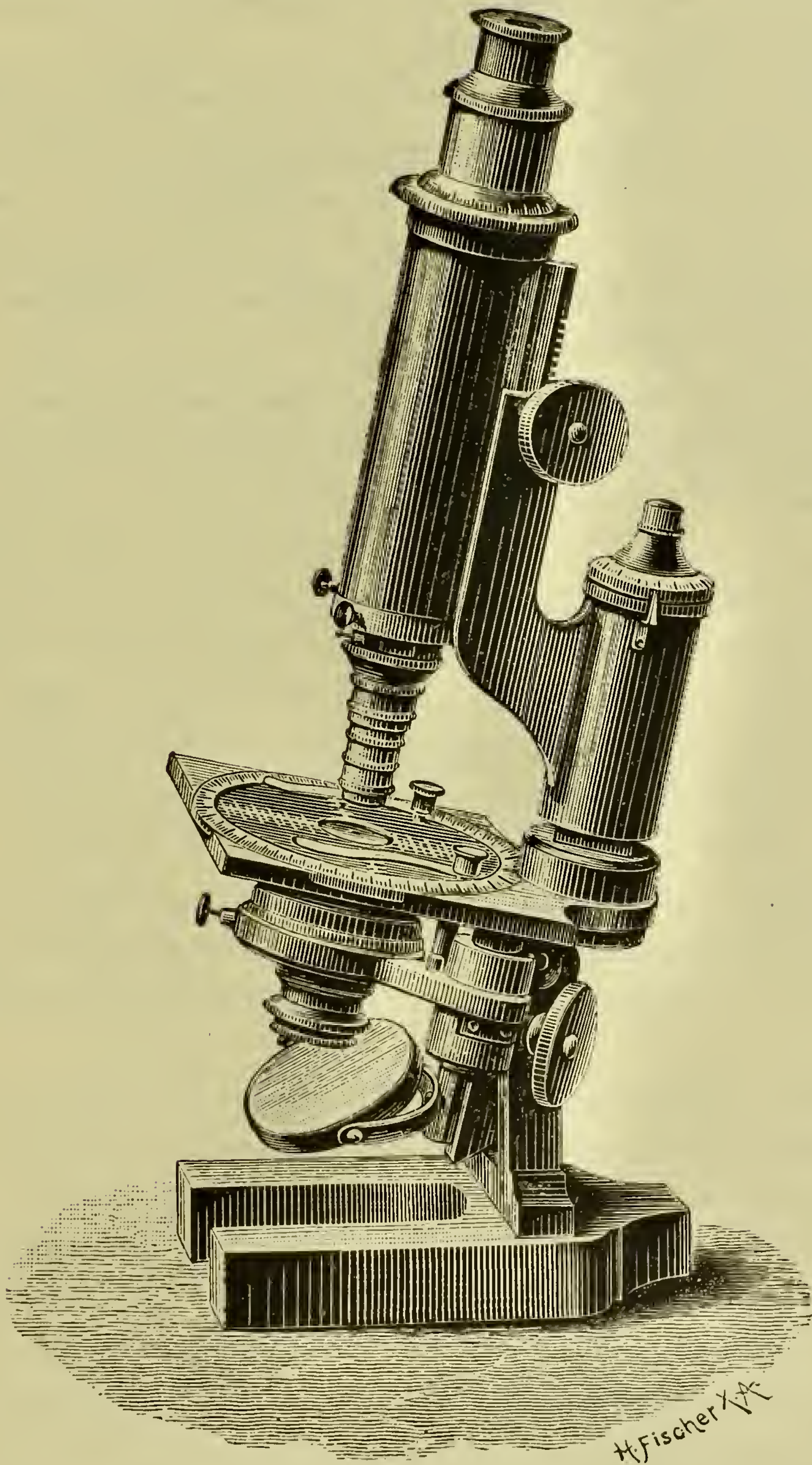


Fig. 104. Grand microscope pour la minéralogie (de Zulauf & Co, à Zurich).

manière plus simple et qui rappellerait la segmentation par fissiparité. Ce serait le cas, à ce qu'on croit, pour certains orga-

nismes inférieurs, pour beaucoup de plantes, et, peut-être aussi, pour les tissus âgés. Le noyau jouerait alors un rôle secondaire et, en quelque sorte, passif; le protoplasma, en se contractant aurait, par contre, un rôle actif.

Il semble, du reste, qu'il y ait des *intermédiaires* saisissables entre les deux modes de reproduction. On a prétendu que les globules blancs se divisaient par la méthode directe ; pour notre compte, nous avons eu l'occasion de constater maintes fois, dans ces éléments, des figures caryocinétiques parfaitement nettes, telles que des étoiles mères et filles.

Lorsque la cellule s'est divisée, elle éprouve une sorte de *réduction,* qui lui donne une nouvelle impulsion à l'*accumulation nutritive.*

MORT DE LA CELLULE

Tous les éléments ne sont pas appelés à se reproduire ; la plupart d'entre eux sont, tôt ou tard, destinés à *mourir* et à disparaître. Il existe donc un vrai *arbre généalogique cellulaire* continu, dans lequel, comme dans les généalogies des humains, il y a des membres féconds et des membres stériles, des branches qui prospèrent et des branches qui s'éteignent.

Après avoir fonctionné pendant un temps variable, l'élément anatomique fondamental qui ne se reproduit pas perd ses propriétés vitales ; il meurt et passe à l'état de cadavre inutile, ou même nuisible pour les autres parties encore vivantes de l'économie. La *mort cellulaire* se traduit par un changement d'aspect marqué : l'élément cytologique devient immobile, rigide ; son protoplasma s'éclaircit ; le noyau devient apparent ; et bientôt surviennent des changements plus profonds encore, qui ne tarderont pas à conduire à la désagrégation de l'élément.

Dans la règle, la cellule subit la *dégénérescence graisseuse* : on voit apparaître dans le protoplasma, souvent même déjà avant la mort, des gouttelettes, d'abord fines, puis de plus en plus volumineuses, qui ne tardent pas à l'envahir en entier ; plus tard, les gouttelettes deviennent libres et tendent à confluer ensemble ; le noyau, qui flottait au milieu des débris, se macère et finit aussi par se désagréger à son tour ; enfin, la graisse et les substances dissoutes se résorbent, et la cellule a complètement disparu. Quelquefois cependant il se forme, par voie de transformation chimique, des produits secondaires qui peuvent persister dans l'organisme ; ce sont, par exemple, la *cholestérine*, la matière *caséeuse*.

La dégénérescence graisseuse se produit aussi bien dans les conditions normales que pathologiques.

Cependant, quelques cellules y échappent ; mais alors ce phénomène se produit dans des conditions tout à fait déterminées ; ainsi, par exemple, dans la transformation de certains épithéliums en *kératine*. Nous renvoyons pour ce qui a trait à ce sujet au chapitre traitant des transformations chimiques de la cellule (p. 117).

Dans quelques cas exceptionnels, l'élément cellulaire ne subit pas complètement la transformation graisseuse ; il se *momifie*, se charge de sels *(calcification, pétrification)* et peut persister ainsi indéfiniment dans l'économie, à l'état de *corps étranger*.

Dès que la cellule est malade, elle prend un aspect spécial, qu'on a désigné d'une manière très heureuse, sous le nom de *tuméfaction trouble : (trübe Anschwellung* des Allemands) l'élément devient plus volumineux, comme gonflé ; son protoplasme est granuleux. Les granulations produites, traitées par l'acide acétique, disparaissent complètement; au contraire de ce qui a lieu dans la dégénérescence graisseuse, qui constitue un stade plus avancé d'altération.

Il est très important de noter que, chaque fois qu'une cellule meurt, sa capsule et le *territoire* de substance fondamentale qu'elle régit sont destinés aussi à se détruire.

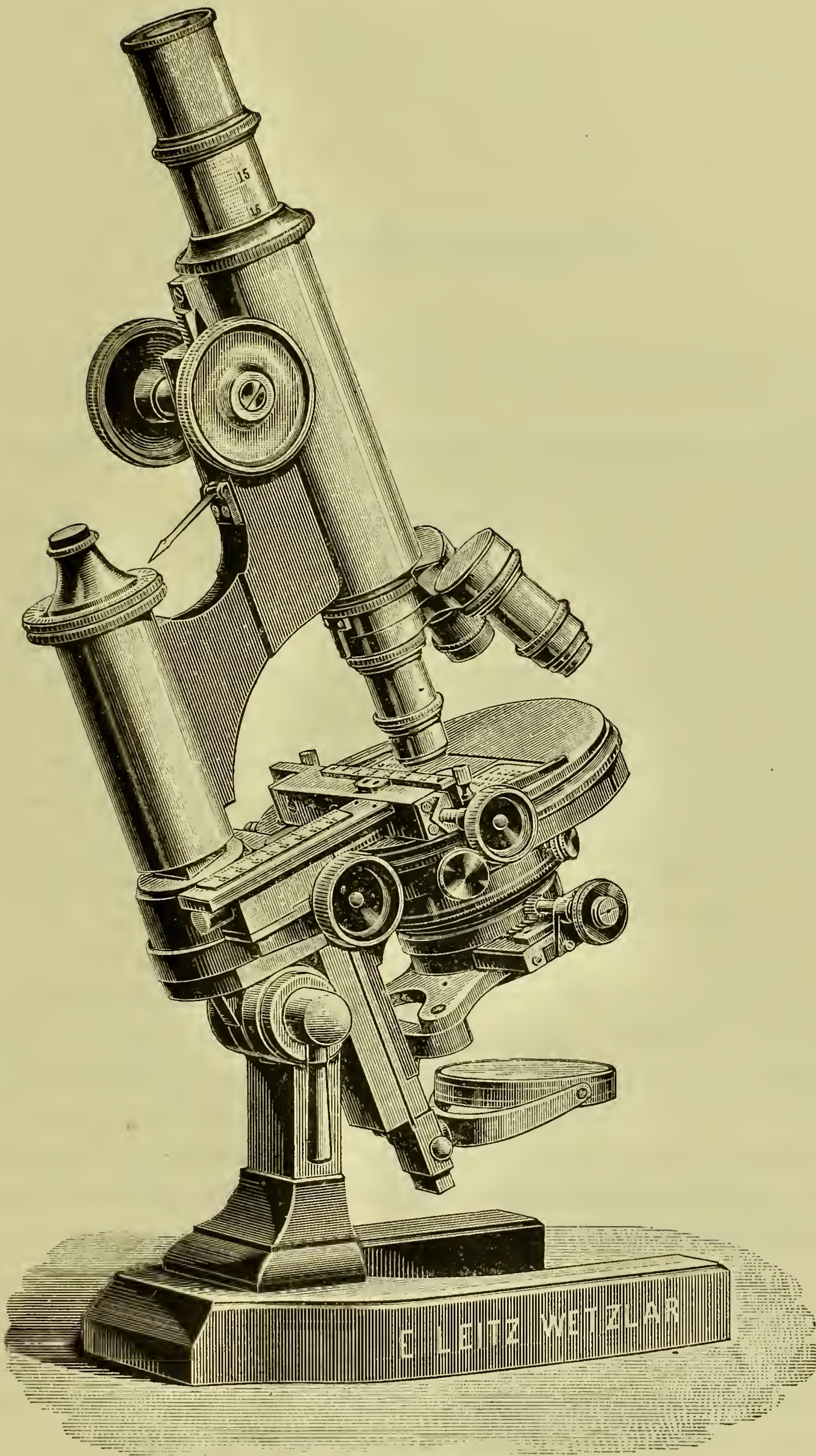


Fig. 105. MICROSCOPE GRAND MODÈLE COMPLET (de Leitz à Jéna).

DURÉE DE LA VIE CELLULAIRE

A la question de la mort cellulaire, se rattache intimement un problème très intéressant : combien de temps peut vivre une cellule ?

Cela est extrêmement variable.

Certains éléments, comme quelques épithéliums, ont une durée très courte ; d'autres, comme la plupart des cellules cartilagineuses, semblent pouvoir persister pendant toute la vie de l'individu. Pour la généralité des cellules, les globules sanguins, les fibres musculaires, les cellules nerveuses, par exemple, il est très difficile d'établir une limite de durée déterminée.

En tous cas, une chose reste certaine : l'organisme est soumis à une loi grosse de conséquences importantes, celle de la *rénovation partielle* continue. Cette loi avait été entrevue, d'une façon imparfaite il est vrai, par les anciens, qui admettaient que le corps se renouvelait complètement tous les sept ans.

Si l'on étend à toute la série des êtres organisés le problème de la durée cellulaire, il devient plus ardu encore. Ainsi : certaines graines (blé des momies? etc.), certains germes (contages fixes, variole ?), certains animaux revivifiables semblent pouvoir se conserver en vie pendant des durées considérables et, pour ainsi dire, *indéfiniment;* à condition toutefois de se trouver dans des circonstances favorables au maintien de leur intégrité.

CINQUIÈME PARTIE

ÉTUDE PRATIQUE DES TISSUS FONDAMENTAUX

(Histologie générale.)

Comme nous venons de le voir, l'élément fondamental de l'économie est la cellule. Chaque élément cellulaire peut être accompagné de substances accessoires (capsule, substance intercellulaire, etc.), élaborée par lui et restant toujours sous sa dépendance nutritive immédiate. Ainsi, dans les tissus compliqués, à chaque cellule correspond toujours un territoire de substance fondamentale (Virchow).

Les cellules de l'économie sont tantôt *fixes* (cellules sédentaires), tantôt *errantes* (cellules migratoires, éléments de la circulation).

Les cellules fixes, accompagnées ou non de substance fondamentale, forment, par leur réunion, les tissus. Ceux-ci, isolés ou groupés entre eux, constituent les organes et les grands systèmes de l'organisme.

Tous les organes, tous les systèmes sont composés, ainsi, d'un nombre relativement restreint de *tissus élémentaires*. Il résulte de cette règle admirable d'architecture organique, qu'on retrouve le même tissu élémentaire dans des régions bien distinctes et souvent fort éloignées les unes des autres *(parties similares* et *dissimilares)*.

Les tissus prennent naissance par la *différentiation anatomique*, et la *spécialisation physiologique* des cellules, lesquelles remontent

constamment aux premières périodes de la vie embryonnaire (Johannes Müller). En vertu de cette grande *loi de la spécialisation*, chaque tissu ne tarde pas à constituer un groupe ayant des propriétés caractéristiques bien déterminées : soit au point de vue de l'agencement des qualités physiques, ainsi que de la composition chimique des éléments cellulaires, soit au point de vue de la fonction à accomplir, soit enfin, à celui des propriétés physiologiques et pathologiques particulières. Dans quelques cas, la spécialisation va si loin, qu'un tissu ne peut plus reproduire qu'un tissu semblable à lui-même. Ainsi, par exemple : le tissu épithélial ne peut se régénérer, normalement ou pathologiquement, qu'en donnant lieu de nouveau à du tissu épithélial.

Plus les tissus se rapprochent de l'état embryonnaire, dans la série animale, et plus ils sont *équivalents* entre eux (Zahn). C'est ce grand principe qui régit la *greffe animale* entre espèces zoologiques différentes.

On peut aussi dire, en général, que moins un tissu est différencié, dans le même individu, comme dans la série des êtres, et plus la faculté de *régénération* est développée.

Pour être complète, toute étude des tissus doit tenir compte des points de vue suivants :

a. Les éléments cellulaires : leurs formes, leurs groupements, leurs propriétés, etc.

b. La substance fondamentale : sa constitution morphologique et chimique.

c. La vascularisation sanguine et lymphatique, les conditions de nutrition qui en résultent.

d. L'innervation propre.

e. Le fonctionnement physiologique, le rôle et la distribution dans l'économie et dans le règne organique.

f. L'origine, le développement, la croissance, les possibilités de régénération, de restauration et de réparation.

g. Les conditions de régression et d'altération, la mort et les phénomènes qui l'accompagnent.

h. Les rapports anatomiques et physiologiques, les relations de parenté ou de voisinage avec les tissus voisins.

i. Les modifications pathologiques, qui ne sont, en somme, que des déviations des propriétés normales ci-dessus.

Classification des tissus.

Bien des essais de classification des tissus ont été tentés, sans que l'on soit encore arrivé à un résultat satisfaisant. L'on a pris successivement pour base de classification, d'abord les propriétés morphologiques, chimiques, physiologiques et embryologiques; et, enfin l'on a essayé de faire des classifications mixtes, s'appuyant à la fois sur plusieurs de ces caractères. Aucun de ces efforts n'a été réellement couronné de succès, quoiqu'il y eut progrès évident d'une tentative à l'autre. L'on peut donc dire hardiment qu'une classification irréprochable des tissus reste encore un des desiderata de la science.

Pour notre compte, nous laissant guider, ici, exclusivement par des considérations d'ordre pratique, puisque nous faisons un livre essentiellement pratique, nous prendrons les tissus dans l'ordre suivant :

1° Le tissu épithélial.	tissu non vasculaire.
2° La lymphe	tissu liquide.
3° Le sang	Id.
4° Le tissu conjonctif	tissu vasculaire.
5° Le tissu cartilagineux	Id.
6° Le tissu osseux	Id.
7° Le tissu musculaire	Id.
8° Le tissu nerveux	Id.

Voici, pour terminer, les classifications de His et de Waldeyer, basées sur les feuillets embryonnaires :

1. Classification de His.

I. *Archiblaste* (Neuroblaste). Germe primitif, d'origine épithéliale (ovaire).	Tissus épithéliaux. Tissus musculaires. Tissus nerveux.

II. *Parablaste* (Hémoblaste). Germe secondaire d'origine connective (leucocytes).	Sang. Vaisseaux sanguins et appareil circulatoire. Tissus connectifs.

2. Classification de Waldeyer (V. fig. 106).

L'*œuf* (cellule simple fécondée, venant de l'épithélium ovarien).	*pôle nucléaire* (aire, tache, vésicule germinatives).	segmentation rapide.	Épiblaste. Mésoblaste. Hypoblaste.	tissus archéblastiques.
	pôle vitellin (vitellus, prolongements protoplasmatiques).	segmentation retardée.	T. connectifs. Sang.	tissus parablastiques.

Le lecteur qui s'intéresse à ces questions trouvera dans le « Traité transcendant » que nous allons publier une classification ontogénétique et phylogénétique des tissus et des systèmes, qui prend pour point de départ nos connaissances embryologiques et biologiques générales actuelles.

Règles générales pour l'étude des tissus.

Il faut prendre le même tissu dans les localités les plus variées ; et, surtout, dans des animaux différents et à des âges distincts. On devra combiner avec logique les méthodes de recherche, et ne jamais négliger l'examen à l'*état frais* et à l'*état vivant*. Certaines préparations seront plutôt destinées à montrer les éléments ; d'autres serviront, au contraire, à faire voir les rapports topographiques. De quelle manière qu'on s'y prenne, il faut être bien persuadé d'avance qu'une seule préparation ne pourra jamais tout démontrer à la fois, quelque habileté qu'on ait, d'ailleurs, dépensé à la confectionner.

Dans l'observation, on devra parcourir méthodiquement chaque préparation *en entier*, de manière à en retirer tout le fruit possible. Les points restés obscurs, dans une première étude, devront être ultérieurement éclaircis par la confection et l'étude de préparations *complémentaires*, et toujours en variant les procédés le plus possible.

L'observation doit être constamment *impartiale et sans parti pris;* on devra surtout s'efforcer d'écarter toute idée préconçue.

Il faut, en tout temps, travailler *proprement* et avec *méthode. La poussière est l'ennemi personnel de l'histologiste.* Le désordre est l'ennemi de tout travailleur sérieux. Il faut, non seulement de l'ordre sur la table de recherches, mais aussi et surtout dans la tête du chercheur.

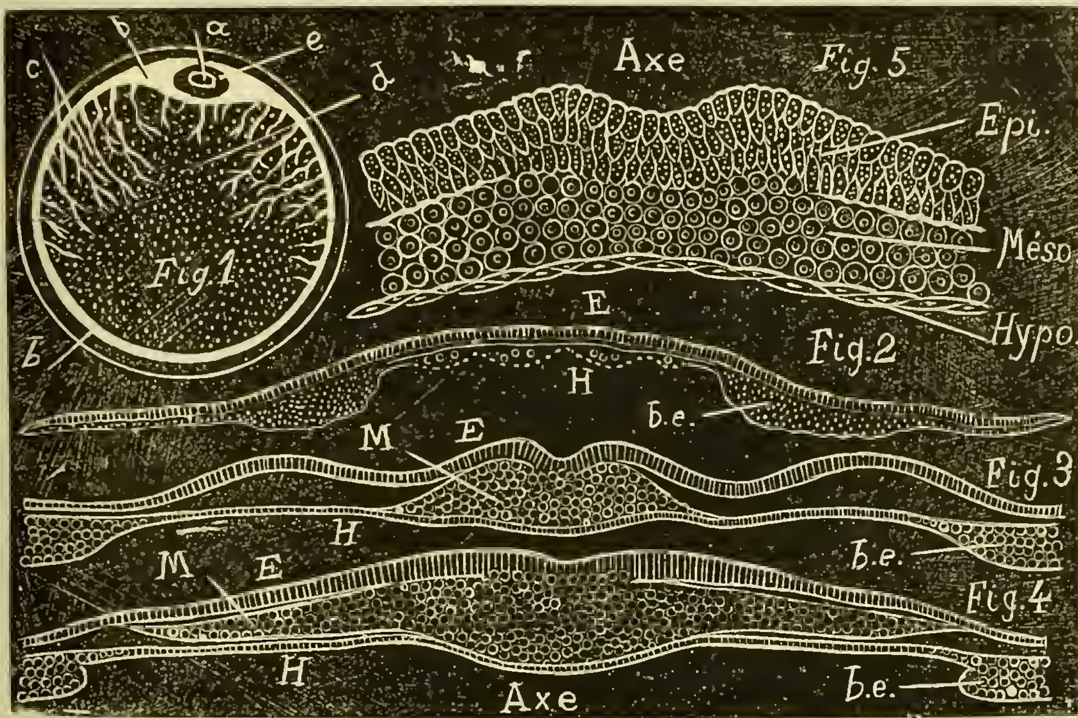


Fig. 106. Les feuillets et leurs origines.

Les dessins ont été intentionnellement schématisés.

Fig. 1. Schéma de l'œuf, d'après Waldeyer. Œuf égal à une cellule épithéliale simple. *a,* Tache germinative (nucléole). *e,* Vésicule germinative (noyau). *b,* Protoplasma envoyant des prolongements *c* dans le vitellus *d.* La ligne la plus extérieure désigne la membrane vitelline.

Fig. 2. Coupe transversale, à travers l'aire germinative, après la fécondation.

Fig. 3. Commencement de formation du mésoblaste au niveau de la ligne primitive. E, H et *be,* comme ci-dessous.

Fig. 4. Les trois feuillets primitifs (archéblaste) bien constitués.

Signification des lettres des fig. 2, 3 et 4 :

E, épiblaste. — H, hypoblaste. — M, mésoblaste partant de la ligne axile et s'avançant vers la périphérie. — *b e,* bourrelet blastodermique endodermo-vitellin.

Fig. 5. Dessin plus en détail de la fig. 3, montrant exactement les rapports des éléments cellulaires des trois feuillets primitifs, au niveau de la ligne primitive et en arrière du canal neural.

Ces aphorismes semblent puérils ; on ne tardera pas cependant, par la pratique, d'en reconnaître toute la valeur.

L'étude de la cellule, des tissus et de leurs propriétés constitue l'*histologie générale,* qui est la grande base de l'anatomie normale et pathologique, ainsi que de la *morphologie* et de la *physiologie générales ;* c'est donc une science d'une grande portée, pour le

naturaliste, pour le médecin, comme pour le philosophe. Vu cette importance, on ne saurait trop s'attacher à acquérir, dans cette direction, de solides connaissances, théoriques et pratiques, d'autant plus, que, malgré le progrès notable réalisé dans ces dernières années, les ouvrages spéciaux ne donnent pas encore à l'histologie générale toute l'attention dont elle est digne.

QUALITÉS INDISPENSABLES POUR FAIRE UN BON HISTOLOGISTE.

Certaines qualités physiques et psychologiques sont indispensables à qui veut se livrer avec profit à l'étude de l'histologie. La propreté, la patience, la persistance ne sont pas suffisantes. Il faut aussi, sans doute, une bonne vue et une habileté de main innées particulières.

Mais tout cela ne servira à rien, si le jeune débutant n'est pas doué d'une façon suffisante du *sens morphologique*, autrement dit, pour employer le terme devenu classique, de *la mémoire de la forme*. Celui qui ne possède que la mémoire verbale ou la mémoire des nombres est condamné d'avance, non seulement à la médiocrité, mais à l'impuissance finale dans les sciences morphologiques.

D'ailleurs, ces mêmes caractéristiques psychologiques maîtresses sont de rigueur pour le naturaliste, comme pour le médecin praticien. Sans elles il n'est pas possible de progresser dans les études anatomiques, qui sont la base naturelle de toutes les sciences biologiques.

Il convient donc de bien apprendre à se connaître, avant d'entreprendre l'étude de ces sciences, pour ne pas risquer de faire fausse route.

SIXIÈME PARTIE

LES TISSUS EN PARTICULIER

I. — LES TISSUS ÉPITHÉLIAUX

Propriétés générales.

Les *tissus épithéliaux primordiaux* engendrent des *épithéliums transitoires* et des *tissus épithéliaux définitifs*.

Dans la période de développement, une partie des *épithéliums primitifs* évoluent, pour donner lieu ensuite à des *épithéliums transitoires,* qui engendrent d'autres tissus, comme le tissu musculaire et les tissus nerveux centraux, périphériques et sensoriels; ces *épithéliums transitoires* sont appelés aussi *tissus paraépithéliaux.* — On peut même dire, qu'à un moment donné, chaque tissu, dans la période embryonnaire, a été d'abord représenté par du tissu épithélial (feuillets gastrulaires et primitifs).

Le tissu *épithélial définitif,* avec ses différentes variétés, constitue un groupe des plus naturels.

Essentiellement originaire des feuillets externe et interne du blastoderme, ainsi que du mésoderme, le tissu épithélial tapisse, sous forme d'un revêtement continu, la surface générale du corps, la face interne du tube intestinal, de l'arbre respiratoire et de l'appareil uro-génital; de plus, il concourt à la formation des organes glandulaires et sensoriels. Au point de vue physiologique, il joue surtout un rôle de *protection,* de *sécrétion* et d'*absorption.*

Les épithéliums définitifs affectent deux formes principales, qui peuvent pathologiquement se transformer l'une dans l'autre : la *forme cornée,* pour les parties exposées directement à l'air libre ; la *forme muqueuse,* pour les portions à l'abri, comme les cavités. Ces deux types d'épithéliums sont susceptibles, à leur tour, de subir des modifications secondaires : la formation cornée donnant lieu aux *poils,* à la *corne,* aux *fanons,* etc. ; la formation muqueuse pouvant présenter des *cils vibratiles,* des *calices,* des *plateaux cellulaires,* etc.

Au point de vue histologique, les productions épithéliales sont formées :

a. D'*éléments cellulaires* spéciaux, plus ou moins modifiés suivant les cas.

b. D'*une substance fondamentale* ou *intercellulaire* qui fonctionne comme un *ciment* d'union et à la formation duquel certaines expansions cellulaires prennent le plus souvent part, sous forme de *fibrilles* kératinisées.

Ces productions n'ont *point de vascularisation propre ;* elles tirent donc leur nutrition des tissus environnants, surtout du tissu connectif. Cette particularité *tout à fait spéciale aux épithéliums, définitifs,* leur confère des propriétés caractéristiques, qu'on ne retrouve pas facilement dans les autres tissus. Dans le tissu conjonctif qui confine aux formations épithéliales et qui leur sert de substratum immédiat, il y a toujours des réseaux vasculaires sanguin et lymphatique plus ou moins abondants, mais ne faisant jamais complètement défaut.

La limite entre le tissu épithélial et les tissus voisins est toujours parfaitement nette ; souvent même il y a une véritable *membrane limitante* ou *basale,* facile à voir au microscope. Disons qu'il est possible que cette membrane soit dans de certains cas doublée d'une couche de nature endothéliale ; par conséquent, sous la dépendance du tissu conjonctif, et peut-être même du système lymphatique.

Quant aux rapports avec le système nerveux, ils sont encore mal connus ; toutefois leur étude a fait de grands progrès dans ces dernières années et l'on a pu se convaincre que les cellules

épithéliales sont très fréquemment en relation de contact direct avec des fibres nerveuses terminales.

On peut diviser, artificiellement et pour la commodité de leur étude, les épithéliums en trois groupes principaux :

1° Épithéliums de revêtement, qui tapissent des surfaces plus ou moins étendues. Ils peuvent être cornés ou muqueux. Ils sont formés tantôt par une seule couche cellulaire : *revêtements épithéliaux simples;* tantôt par plusieurs couches de cellules : *revêtements épithéliaux composés* ou *stratifiés.* Les cellules qui constituent ces revêtements, sont de différentes formes : *plates* (polygonales, crénelées), *cubiques, polyédriques, étoilées, allongées* (prismatiques ou cylindriques, fusiformes). Ces dernières peuvent être armées d'un *plateau,* de *cils vibratiles,* etc.

2° Les épithéliums glandulaires, qui sont toujours de nature muqueuse. Ils varient avec chaque organe. Les glandes peuvent être classées en : glandes *unicellulaires* (cellules caliciformes) ; glandes *cryptiques déhiscentes* (follicules de Graaf) et *indéhiscentes* (acinis de la thyroïde) ; glandes *en tube simples* (glandes sudoripares, de Lieberkhün, utérines, etc.) ou *composées* (glandes à pepsine, etc.); *glandes acineuses simples* (certaines glandes sébacées, etc.) ou *composées* (glandes de Brunner, de Cooper, etc.) ; glandes *spéciales racémoïdes, racémeuses, conglobées, conglomérées,* et *parenchymateuses* (foie, reins, testicules, etc.). Chacune de ces formes glandulaires peut être tapissée de revêtements épithéliaux variables, dont on peut, sans peine, retrouver des représentants dans l'économie.

3° Les épithéliums spéciaux sont disposés en vue d'une fonction déterminée particulière ; telles sont les cellules cylindriques de l'organe de l'émail, certaines cellules sensorielles, etc.

Ces différentes variétés sont morphologiquement dérivées les unes des autres, ainsi que leur développement embryonnaire l'indique.

Les épithéliums cornés sont caractérisés par la présence de la *kératine* (ou corne), substance azotée réfractaire à l'action des réactifs acides, qui gonfle par les alcalis, et de la plupart des colorants et qui répand, quand on la brûle, une odeur caractéristique de corne brûlée. — Les épithéliums muqueux renferment et sécrètent de la *mucine* (mucus) ; substance filante, visqueuse, transparente qui précipite par les acides, en donnant lieu à une matière finement granuleuse et qui, contrairement à la plupart des albumines, est insoluble, dans un excès du réactif (acide acétique).

Il est à noter que les tissus épithéliaux se différencient très tôt dans l'économie ; ils datent généralement des premières périodes de la vie embryonnaire. *Ils grandissent, se développent et se régénèrent exclusivement aux dépens d'eux-mêmes.* C'est sur ce principe qu'est basée la greffe épidermique de nos deux collègues, MM. J.-L. et Aug. Reverdin. La *reproduction* a lieu par scission cellulaire, avec figures karyokinétiques.

Les régressions principales que peut subir le tissu épithélial sont : la *dégénération graisseuse, myéline, muqueuse ;* la *transformation cornée, amyloïde,* et peut-être la *dégénération colloïde.*

Au point de vue pathologique, les épithéliums sont suceptibles de *s'enflammer* d'une manière particulière ; ils donnent lieu à un groupe de tumeurs spéciales : les *adénomes* et les *carcinomes.*

Il résulte de tout ce que nous venons de dire, qu'il y a lieu de faire une distinction entre les *épithéliums* et les *endothéliums.* Ces derniers, sauf dans l'excavation péritonéale chez la femme, ne tapissent que des cavités closes (séreuses, cœur, vaisseaux sanguins et lymphatiques) ; tandis que les premiers revêtent plutôt des cavités ouvertes pendant toute la vie, ou ayant, du moins, été ouvertes à une période de leur développement. Nous étudierons les endothèles en même temps que le tissu conjonctif, avec lequel ils ont des rapports très intimes de siège et d'origine.

Le terme d'*épithélium* (du grec : ἐπί, autour et θηλή, le mamelon) a été créé, dit-on, par l'anatomiste Frédéric Ruysch, qui réussit, le premier, à séparer, par macération, une membrane

autour du mamelon ; plus tard, on reconnut que cette membrane (l'épiderme) était répandue sur toute la surface cutanée du corps et sur toutes les muqueuses ; et ce terme prit une acception plus étendue, mais peu en rapport avec son étymologie. Enfin, His créa la dénomination d'*endothélium*, par opposition à celle d'épithélium ; puis Renaud proposa le nom de *paraépithélium*, pour désigner les épithéliums évolués.

Méthodes de préparation et d'isolation.

Il sera nécessaire de procéder à des examens microscopiques variés, si l'on veut arriver à des notions un peu complètes. Les principales méthodes à appliquer sont :

a. Le raclage, au moyen d'un scalpel, de téguments en vie, ou frais et encore recouverts de leurs épithéliums. On examinera ainsi successivement : les muqueuses de la bouche, du nez, etc., la peau ; sur soi-même, sur le cadavre ou sur des animaux (rat blanc, cobaye, grenouille, etc.).

b. La macération naturelle ou *artificielle*. Des grenouilles, abandonnées à elles-mêmes dans un bocal avec un peu d'eau, perdent, par macération et par desquamation naturelles, des lambeaux plus ou moins étendus de peau ; les mêmes phénomènes se reproduisent, du reste, quoique d'une façon moins apparente, partout où il y a une muqueuse. On pourra utiliser et examiner ces matériaux, plus ou moins bien conservés. Les produits obtenus par la *macération artificielle* donneront des résultats plus satisfaisants. On pourra utiliser tour à tour, comme liquide macérant, de l'alcool au tiers, de la solution de Müller, des acides dilués, etc. Sous l'influence de l'alcool au tiers, qui est un excellent macérant, au bout de 24 heures, les éléments seront suffisamment *fixés*, tandis que les ciments seront *ramollis* et en partie *dissouts ;* ce dernier procédé permettra d'obtenir des dissociations, dans lesquelles la forme des cellules sera très bien conservée.

c. *La fixation in toto* des revêtements ou des glandes par des réactifs coagulants (alcool fort, acide osmique dilué, acide picrique concentré, acide chromique dilué, etc.). On excisera de petits morceaux, aussi frais que possible, qu'on mettra de suite dans le réactif. Pour les grosses glandes, une bonne méthode consiste à injecter des réactifs coagulants par le canal excréteur. Une fois la fixation obtenue, on débitera son objet en tranches, après l'avoir enrobé, si cela est nécessaire ; on colorera une partie des coupes au carmin, au picro-carmin, au carmin à l'alun, ou par d'autres réactifs variés ; puis on les montera en préparation définitive, à la glycérine simple ou acide, au baume, etc. Le traitement au *nitrate d'argent* est aussi d'un bon secours, soit pour fixer, soit surtout pour démontrer la présence de la matière unissante intercellulaire.

Etude des principales formes d'épithéliums.

On commencera d'abord par l'examen des *éléments isolés ;* puis on passera ensuite à l'*étude topographique.*

1° ÉPITHÉLIUMS PAVIMENTEUX. Il sera bon de débuter par les cellules épithéliales de *la peau de la grenouille.* Une friction légère de l'animal avec le doigt détachera les couches, ou bien, ce qui est moins bon, on pêchera dans un bocal rempli d'eau, dans lequel des grenouilles vivantes ont séjourné durant plusieurs heures, les petites pellicules détachées d'épithélium, très fines et qui flottent dans l'eau ; on relavera soigneusement à l'eau pure les parties ainsi desquamées, dans un verre de montre, rempli d'eau, ou, mieux encore, au moyen d'un jet de la pissette.

Ensuite on procédera à leur examen de diverses façons : en les mettant telles quelles, dans une goutte d'eau et en les recouvrant d'une lamelle ; en les portant dans de la glycérine, après fixation à l'alcool et coloration au picro-carmin concentré, ou bien enfin, après leur avoir fait subir un traitement au nitrate d'argent. Cette dernière méthode, délicate à conduire, précise

bien les contours des cellules, et donne une teinte foncée aux *ciments intercellulaires*. Voici comment on procède pour l'appliquer : on verse dans un verre de montre un peu de nitrate d'argent à 5 pour 1000 ; on agite pendant quelques secondes les pellicules épithéliales dans la solution, on relave à l'eau distillée et l'on monte la préparation définitive, à la glycérine ou au baume du Canada. Au bout d'un temps variable et sous l'influence de la lumière, on voit apparaître un système de lignes foncées, correspondant aux champs cellulaires ; si la préparation devient trop foncée, c'est un signe que le nitrate a agi trop fortement, ou que le relavage a été insuffisant.

A l'examen microscopique, toutes ces différentes préparations, démontreront les cellules, sous forme de lames plates et polygonales régulières (pentagonales, hexagonales), ayant au centre un noyau simple ou double et qui prend fortement le carmin. On ne tardera pas à s'apercevoir que ces cellules sont placées par couches régulièrement superposées (épithélium stratifié), et que le revêtement est interrompu, à des intervalles plus ou moins équidistants, par des sortes de trous arrondis, bordés de cellules de forme semilunaire et qui ne sont rien d'autre que les orifices des glandes cutanées.

Ajoutons que dans les préparations non colorées, par l'application de forts grossissements, il est facile de se convaincre directement de l'existence *réelle* des substances intercellulaires unissantes : l'on voit nettement un double contour délimitant un intervalle clair entre chaque champ cellulaire ; c'est ce même espace qui se colore au nitrate d'argent.

Pour compléter cette première étude, on passera ensuite à l'examen *des épithéliums dans la cavité buccale*. Il suffira de racler la face interne de la joue avec un scalpel et d'examiner le produit de raclage dans une goutte d'eau salée.

Pendant qu'on procède à cet examen sommaire, on aura eu soin de placer de ces mêmes épithéliums, dans un verre de montre, dans une goutte de picro-carmin, qui agira, à la fois, comme réactif *fixant* et *colorant*.

Plus tard, on en fera, après un relavage soigné, des préparations définitives montées dans un peu de glycérine; et il suffira de tracer un cadre, pour pouvoir les conserver.

Si l'on désire obtenir des préparations *non colorées,* il faudra préalablement fixer le produit de raclage, par l'addition d'un peu d'acide acétique ou d'alcool; puis monter à la glycérine, simple ou acide. D'une manière générale, il y a avantage à *dissocier* un peu les fragments avec les aiguilles. — Dans toutes ces diverses préparations, on verra les cellules épithéliales isolées, sous forme de lamelles plus ou moins plates, à protoplasma finement granuleux et à noyau facilement visible, coloré ou non, suivant le réactif appliqué. Il y aura en outre de nombreuses colonies de microbes (micrococcus, bactéries) et de champignons, libres ou logés dans l'épaisseur des éléments cellulaires eux-mêmes.

La même recherche pourra être répétée avec les revêtements épithéliaux de *la vessie* et de *la peau.* Seulement, il y aura tout avantage à leur faire subir une macération et une fixation préliminaires. On plongera, pendant 24 heures environ, dans de l'alcool au tiers ou de la solution Müller, de petits fragments de ces organes, pris sur l'homme ou sur un animal. Ensuite, on les raclera ; puis on dissociera le produit de raclage, pour le soumettre, comme ci-dessus, à l'action des différents réactifs. — Avec ces procédés, on obtiendra de bonnes préparations d'*épithéliums striés* et *crénelés* (peau) ou *polymorphes* (vessie).

La macération par l'alcool au tiers (de Ranvier) permet de dissocier facilement les cellules épithéliales. Enfin, pour terminer, on fera des coupes transversales de morceaux de peau ou de muqueuse buccale fixés par l'alcool, ou, mieux encore, par la solution de Müller ou l'acide chromique dilué. La peau de la grenouille donne, en section transversale des images des plus instructives ; nous ne saurions trop conseiller d'en faire des préparations. On colorera les coupes; puis on en fera des préparations définitives à la glycérine, simple ou acide, et au baume du Canada. — Ces préparations feront bien saisir les rapports et

l'agencement mutuels des éléments cellulaires épithéliaux entre eux; ainsi que les modifications qu'ils éprouvent, à mesure qu'on avance vers la surface. On se rendra compte également des rapports des épithéliums avec les ondulations papillaires sous-jacentes. Si l'on a opéré avec des pièces préalablement injectées, on se convaincra également que dans les téguments, les vaisseaux sanguins et les vaisseaux lymphatiques ne pénètrent jamais dans le tissu épithélial proprement dit; mais qu'ils rampent dans le voisinage immédiat de ce tissu.

Les principaux endroits de l'économie dans lesquels se trouvent des épithéliums *pavimenteux stratifiés* sont: la peau, la bouche, le vagin, le gland et le prépuce, la conjonctive, la cornée, la face externe du tympan, etc. Les épithéliums *pavimenteux simples* sont moins répandus; il y en a dans les alvéoles pulmonaires, dans certaines cavités des organes des sens spéciaux, comme l'iris, etc.

2° ÉPITHÉLIUMS CYLINDRIQUES OU PRISMATIQUES. L'intestin de la grenouille présente un bel *épithélium cylindrique à plateau.*

Pour en faire de belles préparations, on disséquera un semblable intestin, on le mettra macérer dans l'alcool au tiers, puis on examinera de différentes manières le produit de raclage. Une excellente méthode consiste à agiter ensuite ce produit dans un liquide colorant; le picro-carmin, ainsi que le carmin à l'alun, fournissent de très beaux résultats (voir à la troisième partie: *dissociation par macération,* p. 63).

On observera ainsi les cellules prismatiques, les cellules fusiformes, les cellules polyédriques ou arrondies, dont l'aspect varie suivant qu'elles siègent *profondément* ou *superficiellement* et suivant la position occupée par le noyau (ou les noyaux, car il y en a parfois, quoique rarement, deux). Les cellules de la profondeur sont arrondies ou plus ou moins fusiformes (cellules de remplacement). Les éléments de la surface sont armés, à leur extrémité superficielle, d'un *plateau,* constitué par une substance particulière et qui, vue avec de forts grossissements, présente des *striations fines,* orientées dans le sens longitudinal de l'élément, tandis que leur extrémité profonde est quelquefois ramifiée, ou effilée en pointe.

Ces différentes cellules alternent avec d'autres éléments très curieux : les *cellules caliciformes*. Ces dernières ont une forme générale plus ou moins allongée, ventrue, arrondie ou même globuleuse, suivant les cas ; leur protoplasma est occupé par une grosse *goutte de mucus,* qui peut parfois s'écouler librement au dehors par une *ouverture* ad hoc ; leur noyau est refoulé à l'extrémité profonde de la cellule, avec la petite quantité restante de protoplasma. Ces éléments spéciaux jouent un grand rôle dans la sécrétion du mucus à la surface de l'intestin : ce sont de vraies *glandes* (*organites*) *élémentaires, unicellulaires ;* lors de leur découverte, on a voulu leur assumer une fonction particulière dans les phénomènes d'absorption digestive (prétendus stomates intestinaux) ; leur nombre varie beaucoup avec l'état d'excitation physiologique ou pathologique de la muqueuse intestinale. Il faut admettre que les cellules ordinaires peuvent se transformer en cellules caliciformes. Parfois l'on sera assez heureux pour retrouver des cellules à prolongement nerveux (?), dans lesquelles le pôle profond de l'élément apparaîtra armé d'un long filament. La macération par l'alcool au tiers, la dissociation, par agitation dans du carmin à l'alun, et le montage définitif à la glycérine constituent une bonne méthode pour déceler leur présence ; en ce cas, les fibres prennent généralement la coloration.

Outre l'intestin, l'estomac et le rectum, on peut retrouver des épithéliums cylindriques dans la vésicule biliaire, l'utérus, une partie du canal déférent, les canaux droits du rein, etc.

3° ÉPITHÉLIUMS A CILS VIBRATILES. Très répandus dans l'organisme, fort intéressants à étudier ; ils représentent un des types frappants de *spécialisation* et de *localisation de la fonction du mouvement* dans l'élément cellulaire. Il sera important d'en faire l'observation à l'*état vivant* et après *fixation ;* de cette façon, on aura un bon exemple de la nécessité de combiner les divers modes de recherches, permettant d'arriver à des notions générales précises sur un tissu.

Pour faire l'EXAMEN VIVANT des cellules à cils vibratiles, il suffit

de *gratter* légèrement la muqueuse d'un organisme encore en vie, ou qu'on vient de sacrifier à l'instant. On pourra s'adresser : *sur soi-même* à la *muqueuse nasale,* laquelle, grattée avec une barbe de plume, fournira de bon matériel ; ou bien, l'on prendra des *animaux* dont le pharynx et l'œsophage (grenouille) sont devenus classiques, pour ce genre d'expériences.

Il faudra mettre rapidement, dans un peu d'eau salée, le produit de raclage, sur un porte-objet ; dissocier légèrement avec les aiguilles ; couvrir le tout avec une lamelle, en évitant toutefois d'exercer une compression capable de tuer les éléments ; et faire un cadre de paraffine, pour prévenir l'évaporation et la concentration du réactif, qui seraient très nuisible. Il devra y avoir, dès le début, suffisamment d'eau salée, afin d'éviter la compression accidentelle des éléments, par l'adhésion trop marquée du couvre-objet.

L'observation microscopique d'une préparation ainsi obtenue. démontrera que les cellules, plus ou moins isolées ou par paquets ont repris une forme plus ou moins globuleuse, et sont généralement encore adhérentes les unes aux autres. Au début il arrive parfois que les éléments sont comme stupéfiés ; mais, si l'on a la patience d'attendre un instant, on a la satisfaction de les voir reprendre leur activité. Ce phénomène est probablement en rapport avec les connexions des cellules et des fibres nerveuses terminales, dont il a été fait mention plus haut. — Les cils vibratiles exécuteront des mouvements, pendant un certain temps, très rapides, mais qui finiront par se ralentir au bout de quelques minutes, de quelques heures et, exceptionnellement, de quelques jours. Sur les fragments, encore entiers, de la muqueuse on apercevra les mouvements d'ensemble des cils, que les auteurs ont souvent comparé aux rides mouvantes de l'eau ou aux ondulations du blé ou de l'herbe sur un champ, sous l'influence du vent. Les cellules à l'état libre, montrent des mouvements bizarres, comparables à ceux des infusoires : elles tournoyent en tous sens sur elles-mêmes, ou bien poussent de diverses manières les objets et le liquide environnants. Il sera surtout intéressant d'examiner, avec soin et avec le concours de forts grossissements, les cils dont le mouvement cesse ou tend à se ralentir.

On acquerra des notions précieuses sur *les propriétés générales de la cellule,* en soumettant sous le microscope ces mêmes éléments à différentes influences :

a. Il sera facile de se convaincre que le ralentissement de la motilité est dû le plus souvent à une véritable *asphyxie* par manque d'oxygène. Il suffit d'ouvrir le cadre de paraffine et de soulever légèrement la lamelle, pour redonner un peu d'air et pour voir les cils reprendre à nouveau leurs mouvements rapides. De là, l'indication, quand on veut prolonger l'observation pendant longtemps, sur la même préparation, d'enfermer intentionnellement quelques bulles d'air sous la lamelle.

b. Les *changements de température* ont aussi une grande influence. On s'en rendra compte en refroidissant ou en réchauffant le porte-objet. Les mouvements seront les plus intenses vers 35° ; passé cette température, ils diminueront d'intensité, pour cesser définitivement, vers 45°, par la mort et la coagulation de l'élément cellulaire. (Platine chauffante, fig. 34 et 35.)

c. Il sera bon de passer aussi en revue l'action des *réactifs de nature chimique.* A cet effet on ouvrira le cadre de paraffine à deux endroits ; on mettra d'un côté une goutte du réactif, de l'autre côté, un petit morceau de papier buvard, pour faire l'aspiration. C'est la méthode généralement usitée pour utiliser la capillarité. La méthode de Buzzi (v. p. 58) est également bonne. De cette façon l'observateur assistera, directement sous ses yeux, au passage du réactif. Il observera d'abord, une période d'excitation, se traduisant par une plus grande activité des mouvements ; puis bientôt succédera une phase de dépression, amenant un rallentissement de la motilité; enfin les oscillations des cils cesseront et la cellule mourra, perdra sa forme globuleuse, due, assurément, à une contraction active du protoplasma, en même temps que le noyau, jusque là invisible, deviendra apparent. Ajoutons que les narcotiques (chloroforme, éther, etc.), lorsqu'ils n'agissent pas trop rapidement, ont au début une action d'abord excitante, puis stupéfiante ; ensuite, si leur action se prolonge, ils amènent la mort.

d. On pourra également expérimenter d'autres GAZ que l'oxy-

gène, avec le porte-objet à chambre à gaz (voir, plus haut, fig. 66) ; ou bien étudier l'influence de l'*électricité*, sous ses différentes formes et, au moyen du porte-objet électrique[1] : courant constant ou faradique, étincelle.

Toutes ces expériences démontrent que les cellules à cils vibratiles, douées d'une vitalité propre très marquée, jouissent en tous cas d'une grande *indépendance* vis-à-vis du système nerveux. Elles peuvent vivre en effet, avons-nous dit, plusieurs heures consécutives, et même plusieurs jours, dans des préparations microscopiques et complètement séparées du reste de l'organisme.

Une fois l'étude vivante des épithéliums à cils vibratiles terminée, il faudra passer à l'examen d'OBJETS FIXÉS. Les mêmes méthodes que nous avons exposées précédemment, à propos des épithéliums cylindriques, sont parfaitements applicables, et, tout particulièrement, la macération par l'alcool au tiers, la solution de Müller avec coloration ultérieure au picro-carmin ou au carmin à l'alun. On se fera une série de préparations variées ; leur étude attentive viendra compléter les notions précédemment acquises. — Il sera facile de voir que, pour ce qui concerne leur forme générale, les cellules à cils vibratiles sont construites tout à fait sous le type des cellules cylindriques ordinaires ; l'épithélium de la grenouille, ou mieux encore de certains crapauds, est très favorable, pour démontrer que les cils vibratiles sont implantés sur un *plateau* bien dessiné ; quant aux cils eux-mêmes, ils ont une forme générale *en massue* et sont implantés obliquement, par rapport au plateau.

Les revêtements *épithéliaux à cils vibratiles* jouent un rôle

[1] Le porte-objet électrique consiste en un slide ordinaire, sur lequel on a collé deux bandelettes de clinquant, qu'on peut mettre en communication chacune avec un des pôles des appareils électriques, et qui ménagent au centre de la lame de verre un espace libre, pour mettre l'objet à étudier dans une goutte de liquide. — On s'arrange, en plaçant le cover, pour que le courant électrique puisse passer au travers du liquide. — Cet appareil intéressant peut être aussi réalisé avec un porte-objet à cellule (voir fig. 65).

important dans l'économie : placés souvent contre la paroi interne des canaux membraneux, ils servent à faire progresser les sécrétions ou les produits contenus dans ces canaux. On les trouve fréquemment sur le tégument externe des animaux inférieurs ; ils servent alors à la locomotion ou à toute autre fonction. Le *spermatozoïde* lui-même doit être considéré comme étant une cellule épithéliale à cil vibratile, transformée. Chez l'homme, on retrouve les cellules à cils : dans le *nez,* une partie du *pharynx* et du *larynx,* la *trachée* et les *bronches;* dans l'*épididyme,* une portion du *canal déférent;* dans les *trompes de Fallope* et d'*Eustache,* etc. Dans de certaines régions, comme la partie postérieure du *voile du palais,* les cils, présents dans le jeune âge, disparaissent plus tard, pour faire place à des cellules cylindriques ordinaires.

Les revêtements à cils vibratiles peuvent être étudiés *autrement qu'avec le microscope.* Nous ne saurions trop conseiller de faire l'expérience suivante : après avoir détruit le système nerveux central à une grenouille, on lui enlèvera la tête avec le pharynx et l'œsophage ; puis, d'un coup de ciseaux, l'on fendra le maxillaire inférieur, la langue et l'œsophage sur toute sa longueur, par sa face antérieure. On étalera soigneusement le tout sur une lame de liège, avec des épingles, en évitant toutefois les tiraillements trop considérables ; on essuyera délicatement la surface de la muqueuse, avec un linge fin ou avec un peu de papier filtre imbibé d'eau salée, pour enlever le mucus qui en recouvre la surface ; de temps en temps, on humectera avec un peu de solution salée, pour prévenir le desséchement. Si l'on se place convenablement contre la lumière, on peut, quand on a bonne vue, apercevoir, sans autre, le mouvement général des cils. La lumière directe du soleil rend l'expérience plus évidente. Avec le secours de la loupe, l'observation deviendra plus facile encore. Si l'on met une poussière colorée, fine quelconque, de la raclure de crayon, du charbon en poudre, de la craie par exemple, on voit les grains de poussière *progresser* rapidement, poussés par les cils. Cette observation fera comprendre quel rôle important jouent les cils implantés dans l'arbre respiratoire, vis-à-vis des poussières inhalées. — On peut

aussi mettre sur la muqueuse des fragments assez volumineux de liège ou de carton ; on sera étonné de la *force* que peuvent déployer les cils. — Les expériences comparatives faites avec les appareils gradués de Calliburcès sont des plus instructives. Les personnes adroites pourront s'amuser à loisir, à construire, avec des matériaux légers, des appareils semblables et à les faire fonctionner. Leur emploi fera comprendre toute la différence qu'il y a entre la *microscopie,* qui n'est qu'une méthode spéciale d'investigation, et l'*histologie,* qui est une science complète, employant tour à tour l'observation et l'expérimentation, au gré de ses besoins multiples et divers.

4° ÉPITHÉLIUMS PIGMENTÉS. Ils sont faciles à observer, par les procédés ordinaires, dans la peau du nègre. A défaut de celle-ci, on obtiendra les mêmes résultats, en prenant des fragments de muqueuse pigmentée en noir; tels qu'on les retrouve souvent chez certains animaux domestiques : le chien, le chat par exemple. Le mieux sera de faire des coupes d'objets frais ou après durcissement; ou, mieux encore, de faire intervenir la macération par l'alcool au tiers, puis la dissociation. Il sera aisé de se convaincre que la *matière pigmentaire* siège exclusivement dans le protoplasme cellulaire, sous forme de fines granulations brunâtres ou noirâtres et exclusivement dans les couches profondes du tissu.

5° ÉPITHÉLIUMS GLANDULAIRES. Il sera nécessaire de s'adresser aux glandes les plus diverses, si l'on veut arriver à des notions tant soit peu complètes. On exécutera des macérations ou des coupes d'organes durcis; de manière à voir les éléments isolés ou en place.

Pour étudier les *éléments cellulaires* on pourra commencer par l'observation du produit de *raclage frais* de grosses glandes : le *foie,* les *reins,* les *glandes salivaires.* On sera frappé, dès l'abord, de la grande diversité de physionomie et de réactions des cellules sécrétoires. — Pour mieux se rendre compte de leur *forme exacte,* on complétera ce premier examen sommaire, en confectionnant des préparations fixées par l'alcool au tiers ou la solution

de Müller ; ces réactifs permettent d'obtenir de bonnes préparations définitives.

Ensuite, il faudra passer à l'observation de *coupes d'organes durcis :* les mêmes que ci-dessus, pour les *grosses glandes*. Comme type de *petites glandes,* on prendra : les *glandes sébacées* des petites lèvres ou de la marge anale, les *glandes sudoripares* de la paume de la main, les *glandes muqueuses* du voile du palais, les *glandes en tube* de l'intestin grêle, celles *à pepsine* dans l'estomac, etc., etc.

L'acide osmique dilué, surtout en injection par le canal excréteur est un excellent réactif fixant pour les glandes, d'ailleurs comme pour tous les organes en général.

L'examen de toutes ces préparations démontrera la grande diversité des types glandulaires, et donnera une idée approximative de leur mode de fonctionnement. Ainsi, dans les glandes sébacées, il sera facile de saisir tous les intermédiaires de la *dégénérescence graisseuse* et de voir, dans le lumen de la glande, la matière sécrétée résultant de la destruction des éléments cellulaires eux-mêmes. Tandis que dans les glandes sudoripares, le rein, etc., il ne sera pas possible de remarquer des traces de phénomènes analogues. De là, la distinction que l'on fait quelquefois, en sécrétion *mérocrine* et *holocrine* (Ranvier).

Dans les cellules hépatiques, par l'application de la teinture aqueuse d'iode, on pourra démontrer la présence de la substance *glyconégique,* qui, comme on sait, prend sous l'influence de ce réactif une teinte brunâtre plus ou moins marquée.

Les préparations de glandes à pepsine feront voir *deux espèces* de cellules, se comportant d'une manière tout à fait différente vis-à-vis des réactifs, en particulier vis-à-vis du carmin et de l'hématoxyline appliqués isolément ou concurremment. Dans les glandes salivaires, on aura l'image des *croissants, dits de Gianuzzi,* encore si différemment interprétés par les histologistes : pour les uns ce sont des éléments cellulaires spéciaux ; pour les autres, ce seraient les corps de vraies cellules caliciformes ; pour d'autres encore, des cellules en voie de régression, ou des cellules destinées à sécréter de la sérosité.

Si l'on a à sa disposition des pièces *injectées*, on se rendra compte aisément des rapports importants des téguments et des glandes avec la circulation, qui est toujours très parfaite dans les appareils glandulaires. L'examen de l'*innervation* est déjà plus malaisée; quoique son étude ait beaucoup progressé depuis l'application de la méthode Golgi, elle est encore du reste très mal connue. Cependant, sur des coupes ordinaires de glandes salivaires, il n'est pas rare de voir de petites agglomérations de cellules de nature *nerveuse* (ganglions périphériques). L'acide osmique, le chlorure d'or révéleront également la présence de quelques *fibres nerveuses* (voir plus loin le tissu nerveux). La méthode au chromate d'argent décèle l'existence d'un grand nombre de fibrilles nerveuses dans les épithéliums.

Les *figures de la Karyokinèse* sont visibles, sans réactifs et sur les animaux vivants, dans la queue de la salamandre, du triton, etc., lesquelles peuvent être fixées au moyen d'acide chromique dilué, d'acide picrique, et colorées ensuite par la safranine, le carmin à l'alun, etc. Avec un peu d'habitude, on finit par les retrouver un peu partout, plus ou moins visibles, plus ou moins bien conservées, même dans les préparations faites sans soin spécial.

6° Épithéliums cornés. Leur étude pourra être poursuivie directement, avec ou sans le concours de réactifs macérants, comme la potasse caustique à 40°, appliquée à chaud ou à froid, etc.

L'on ne négligera surtout pas l'examen des ongles, des poils, des fanons de baleine. Pour cela, on se confectionnera des coupes montées en préparations de pièces injectées ou non.

Nous ne saurions trop recommander d'étudier, toutes les fois que l'occasion se présente, tous les poils variés qu'on rencontrera, chemin faisant, sous son microscope. Il y en a une si grande variété, que M. Waldeyer en a fait un atlas volumineux, d'un secours précieux pour les médecins légistes, les naturalistes, et même pour certains industriels.

7° Épithéliums spéciaux. Très intéressants, mais d'une étude

plus difficile. Ceux de l'*organe de l'émail* se verront dans des follicules dentaires, soit frais, soit préalablement fixés. Ceux des organes des sens *spéciaux* demandent l'application de méthodes bien compliquées pour un commençant. Le jeune histologiste pourra y revenir plus tard, quand il sera plus familier avec les procédés fins d'investigation.

Mucus.

C'est un liquide complexe et variable sécrété par les glandes et les muqueuses en général. Il renferme normalement quelques débris d'éléments cellulaires, résultant de la *desquamation* physiologique des revêtements épithéliaux. Dans des conditions plutôt pathologiques, on y trouve aussi des globules de pus, en plus ou moins grande abondance; et même des globules rouges sanguins, s'il y a inflammation violente.

Le liquide fondamental du mucus normal ne contient point d'albumine; mais pathologiquement il peut en renfermer parfois. Traité par des acides (l'acide acétique en particulier), il se trouble, en donnant lieu à une matière très finement granuleuse et *insoluble,* même dans *un excès* du réactif, ce qui n'est généralement pas le cas pour les albumines. La chaleur ne coagule pas les mucus; mais son action combinée à celle des acides, amène la production d'albumine acide et de sucre de raisin, surtout si l'on va jusqu'à l'ébullition. L'alcool, de même que la plupart des acides, provoque la formation d'un précipité insoluble. Ces différentes propriétés sont dues à la présence d'une substance particulière encore assez mal définie : la MUCINE.

Il sera facile de se rendre compte de ces données en examinant, sous le microscope, du mucus provenant de la cavité buccale, nasale ou de tout autre endroit de l'économie. Le liquide qui distend les cellules caliciformes n'est rien d'autre, en grande partie du reste, que du mucus; on s'en convaincra facilement, en examinant de près des préparations de ces éléments. Cette étude n'est pas sans importance au point de vue pratique, car journellement

on rencontre la mucine dans les objets microscopiques. Il faut donc bien savoir la reconnaître.

Kératine.

C'est la matière fondamentale de la corne des ongles, des poils, des fanons, de la couche externe de l'épiderme, etc. Elle est insoluble dans l'eau, l'alcool et l'éther. Dans l'acide acétique et l'eau (surtout chaude), elle gonfle et se ramollit. L'acide acétique concentré, appliqué à chaud, la dissout. Dans les mêmes conditions, par l'acide sulfurique, elle forme de la leucine et de la thyrosine. Par la potasse caustique, concentrée et à chaud, elle gonfle énormément.

On fera bien de revoir *expérimentalement* ces propriétés. Des poils ou des fragments d'ongle constitueront de bons objets d'étude. Quand on chauffe, sur un porte-objet, des écailles épidermiques ou un copeau mince d'ongle, avec de la potasse caustique, on voit réapparaître les anciens éléments cellulaires, sous forme de vésicules arrondies et transparentes; mais il est impossible de retrouver une trace quelconque du noyau, même en faisant intervenir ensuite des réactifs colorants. La cellule est définitivement transformée et *kératinisée* (cornifiée).

Kératohyaline, éléidine.

L'ÉLÉIDINE est une matière qui se conserve inaltérée, même dans des préparations qui ont été conservées des années dans le baume du Canada. La nigrosine et le rouge du Congo la colorent particulièrement bien. Le rouge du Congo lui donne une teinte rouge intense très durable, qui, avec le temps, vire au brun. Sous l'influence de l'acide chlorhydrique faible, la teinte passe au bleu intense.

L'éléidine se retrouve dans toutes les couches superficielles de l'épiderme et accompagne particulièrement les canaux des glandes

sudoripares ; elle fait suite à la *kératohyaline,* qui représenterait un stade de différentiation de l'éléidine, dans la cornification de l'épiderme cutané.

On peut la trouver dans l'intérieur, comme à la périphérie et à l'extérieur des cellules épithéliales.

La *kératohyaline* se colore par l'hématoxyline. Cette matière et l'éléidine ont fait l'objet de recherches intéressantes, de la part de M. le D[r] Buzzi, un de nos anciens élèves.

II. — LA LYMPHE

La lymphe est le suc fondamental de l'économie ; c'est dans ce milieu liquide naturel que baignent normalement tous les éléments histologiques. Au point de vue morphologique pur, elle peut être considérée, de même que le sang, comme étant un *tissu liquide* en circulation perpétuelle.

Abandonnée à elle-même, la lymphe se *coagule,* en prenant une teinte rosée, encore mal expliquée. Elle donne lieu à un caillot, qui a une grande analogie avec celui formé par le sang. La circulation lymphatique a, du reste, des connexions très intimes avec celle du sang : si bien que les histologistes et les embryologistes modernes, s'appuyant sur des considérations de genèse et d'anatomie comparée, sont d'accord pour considérer la circulation sanguine, comme une dérivation directe et un simple *perfectionnement* de la circulation lymphatique.

Le *chyle* est la lymphe venant de l'intestin, au moment de la digestion des corps gras.

Au point de vue anatomique, la lymphe présente à considérer :

a. Des ÉLÉMENTS MORPHOLOGIQUES : les *globules blancs* (leucocytes, cellules migratoires, corpuscules lymphatiques, cellules indifférentes, etc.) ; quelques *globules rouges* (hématies) ; et, peut-être aussi, des *plaquettes sanguines.* Dans les lymphatiques, venant de l'intestin (chylifères), il y a des *granulations graisseuses,* pourvues d'une membrane albumineuse.

b. Un LIQUIDE FONDAMENTAL : le sérum lymphatique (*blastème*

des anciens), qui fonctionne comme *substance intercellulaire,* et, surtout, comme *liquide nourricier* général de l'économie.

Eléments morphologiques. Ils se retrouvent tous dans le sang. Nous ne vouerons notre attention spéciale, ici, qu'aux leucocytes. Les globules rouges, ainsi que les plaquettes sanguines et les granulations graisseuses, seront étudiées avec plus de commodité dans le chapitre suivant, traitant du sang.

Les *globules blancs* ont été considérés, avec une certaine raison, comme le type de la cellule ayant encore gardé en apanage toutes les propriétés physiologiques; aussi ont-ils toujours été un objet de prédilection pour les histologistes. Ils constituent, en effet, des éléments très importants à connaître, pour celui qui veut se rendre un compte exact des propriétés générales de l'élément cytologique; c'est chez eux, en effet, que les *échanges* avec les milieux ambiants (absorption, excrétion), l'*excitabilité,* la *motilité* et tant d'autres propriétés importantes, peuvent être analysées avec facilité, mises, pour ainsi dire, en évidence et modifiées à volonté, suivant les conditions physiques ou chimiques dans lesquelles on se place: température, réactions diverses, électricité, etc.

Au point de vue pathologique, les leucocytes donnent lieu aux *globules pyogènes;* ils participent à la formation des tumeurs connues sous le nom de *lymphomes.*

Sérum. Le sérum lymphatique a les mêmes propriétés physiques et chimiques que celui du sang: réaction alcaline, albumine, sels, mode de coagulation, etc.

Etude pratique de la lymphe.

Cette étude est d'une grande portée, au point de vue physiologique, comme au point de vue pathologique.

I. — Manière de s'en procurer.

Elle varie naturellement beaucoup, suivant le but qu'on se propose. Si l'on veut en obtenir de grandes quantités, il faudra

s'adresser de préférence à de *gros animaux :* cheval, bœuf, chien, lapin, etc.

Pour l'étude histologique ordinaire, il suffit généralement de recueillir ce suc sur des animaux *à sang froid.* Les amphibies, tels que la grenouille et la salamandre, sont particulièrement appropriés; la lymphe qu'ils fournissent est plus résistante aux températures ordinaires, que celle des animaux à sang chaud.

Pour les *gros animaux,* il devient nécessaire de pratiquer une vraie vivisection et de faire une *fistule* à un gros tronc lymphatique d'un membre, ou même au canal thoracique : il est bon de noter que la lymphe ainsi obtenue n'est jamais parfaitement pure, puisqu'il est impossible d'éviter une légère hémorragie et qu'il ne tarde pas à se produire une certaine irritation inflammatoire. On peut aussi puiser également de la lymphe, dans les grosses séreuses (péritoine, plèvre, péricarde, espace arachnoïdien, etc.) ; mais cela n'est pas toujours commode.

Pour les *amphibies,* notamment pour la *grenouille,* devenue classique dans ce genre de recherches, et, encore mieux, pour les gros crapauds, on s'adresse de préférence aux sacs lymphatiques dorsal et ventral, dont cet animal est pourvu. La quantité de lymphe, qui s'y trouve normalement, n'est jamais bien grande ; il n'y en a d'ordinaire que quelques gouttes, tout au plus. Cette quantité est cependant suffisante pour un examen microscopique sommaire.

La *curarisation* augmente légèrement cette quantité. Un moyen, qui peut être aussi d'un bon secours, consiste à mettre les grenouilles, la veille, dans un bocal, de sorte quelles soient forçées de séjourner longtemps *dans de l'eau,* sans se noyer cependant. Si elles passent ainsi toute une nuit, la lymphe augmente d'une manière sensible dans les sacs lymphatiques. Ce procédé aura l'avantage de fournir une lymphe plus normale que celle obtenue par l'intervention d'un toxique, comme le curare.

Pour *retirer la lymphe,* on choisit de préférence le grand sac lymphatique dorsal. Après avoir enveloppé, saisi et immobilisé la grenouille dans un linge bien sec, en laissant la tête libre, on fait, au moyen des ciseaux fins, une petite incision de la peau entre les

yeux. On introduit jusqu'au fond du sac lymphatique une pipette en verre bien effilée et bien propre ; on la promène avec délicatesse en différents sens, tout en faisant une légère aspiration avec la bouche. Si la quantité de lymphe est trop minime, on peut faire un lavage, au moyen de la pipette, avec quelques gouttes de solution de chlorure de sodium à 7,5 °/oo. On met le contenu dilué de la pipette ainsi obtenu, provisoirement dans un verre de montre, pour le porter ensuite sur le porte-objet, et l'on s'empresse de couvrir d'une lamelle, préalablement bien essuyée, pour commencer immédiatement, et avant toute altération, l'examen microscopique.

II. — Coagulation.

Si la lymphe recueillie est pure ou trop peu diluée, elle ne tarde pas à se *coaguler* et à se prendre en masse compacte, ayant l'aspect d'une gelée transparente et légèrement colorée en rose, teinte qui s'accentue encore au contact de l'air. On observera le mieux ce phénomène, en la mettant pure dans un verre de montre.

L'addition du chlorure de sodium à 7,5 °/oo, ou de sels alcalins ayant les mêmes propriétés (sulfate de soude, etc.), *retarde* et peut même *empêcher* la coagulation.

Lorsque la coagulation se sera produite, on pourra examiner le caillot formé, en faisant une préparation à l'eau salée. Ou bien, mieux encore, on portera rapidement sur un porte-objet une goutte, fraîchement extraite de lymphe, on couvrira d'une lamelle et on fera un cadre de paraffine. Par ce dernier procédé, il devient possible d'assister, directement sous le microscope, à la coagulation et de suivre le phénomène pas à pas. D'une manière ou d'une autre, on verra la fibrine prendre la forme d'un *réseau* très fin, de fibrilles anastomosées, ayant d'ailleurs les mêmes propriétés que celui du caillot sanguin (voir plus loin *Sang :* p. 175).

III. — Eléments morphologiques.

Pour commencer, on fera une ou deux préparations microscopiques de lymphe bien *fraîche,* diluée avec la solution de sel de cuisine à 7,5 °/oo ; on bordera soigneusement à la paraffine, de

manière à prévenir une altération trop rapide, par l'évaporation et la concentration du liquide. Ainsi, on pourra étudier, sans autre, les globules lymphatiques (leucocytes) à l'état vivant.

a. Ces éléments se présenteront, au premier coup d'œil, sous forme de petites sphérules blanchâtres, incolores et très réfringentes ; examinés avec de forts grossissements, ils feront voir la trépidation des granulations du protoplasma vivant ; leur noyau sera invisible, et seulement, dans des cas plutôt rares, à peine perceptibles.

b. Au début, ils seront d'abord dans un état tétanique, qui résulte du saisissement provoqué sur ces cellules par la confection de la préparation. Au bout d'un certain temps, s'habituant à leur nouveau milieu et reprenant *confiance,* si nous osons nous exprimer de cette façon, ils recommenceront à faire des mouvements *actifs* (mouvements amœboïdes). La cellule se déformera, en prenant les aspects les plus bizarres, très instructifs à suivre du regard et à analyser. D'abord très *lents,* les mouvements deviennent progressivement de plus en plus vifs, surtout en été et si le temps est très chaud. Les globules des animaux à température variable (grenouille) sont plus actifs ; ils sont donc plus appropriés à ce genre d'observation que ceux des animaux à sang chaud, qu'on ne peut guère observer qu'avec le secours de la platine chauffante (fig. 34 et 35). — Pour faire une observation vraiment fructueuse, il est absolument indispensable de *dessiner,* sans parti pris, un grand nombre de fois consécutivement le même élément à des intervalles réguliers (de ½ en ½ minute, par exemple), et sans se préoccuper des dessins déjà exécutés. Quand on examinera ceux-ci après coup, on sera frappé de la diversité étonnante des formes réalisées.

c. Si l'on met sa préparation au soleil, ou qu'on la chauffe doucement et progressivement sur une lampe, on activera beaucoup les mouvements ; mais à partir de 40°, ceux-ci commenceront à se rallentir, pour cesser complètement vers 48° centigrades. A ce moment la cellule se coagule et meurt. Elle reviendra rapidement à la forme sphérique, en même temps que la trépidation des microsomes aura cessé et que le noyau sera devenu apparent. On

pourra s'assurer que ce dernier est toujours placé *excentriquement,* par rapport au protoplasma, et qu'il présente les formes les plus variables : arrondie, entaillée, en biscuit, déchiquetée, etc.

d. Si, au lieu d'appliquer la chaleur, on fait intervenir le *froid,* les mouvements se ralentiront graduellement et finiront par disparaître, pour reprendre à nouveau, sous l'influence d'une nouvelle élévation de température. Ces données sont d'une importance capitale, pour comprendre d'une façon raisonnée les effets obtenus sur les éléments cellulaires, par les applications thérapeutiques du chaud et du froid.

e. Les *propriétés respiratoires* des leucocytes pourront être étudiées de différentes manières. En abandonnant à elle-même, plusieurs heures, une préparation de lymphe diluée, sans bulles d'air et hermétiquement bordée, les mouvements amœboïdes finiront par cesser ; si l'on prolonge l'expérience, les éléments meurent fatalement par asphyxie ; si l'on ouvre à temps le cadre et qu'on redonne de l'air, les éléments recommencent à se mouvoir.

f. En faisant une préparation bien bordée, et dans laquelle on aura, au contraire, laissé intentionnellement de l'air, on verra qu'au bout de quelques heures, les globules lymphatiques, attirés par l'oxygène des bulles d'air, se sont transportées en masse contre ces dernières. On pourra du reste, si on le désire, répéter, avec l'oxygène et d'autres gaz, les mêmes expériences que nous avons décrites pour les épithéliums à cils vibratiles (voir p. 152).

g. Les mouvements amœboïdes se conservent, même plus de 24 heures, hors de l'économie et dans une préparation microscopique bien faite. Dans un cas, nous les avons vus persister pendant trois jours, dans une préparation à l'eau salée, dans laquelle on avait eu soin de laisser des bulles d'air abondantes.

h. Les globules blanc ont une propriété très importante à noter : celle de recueillir et d'absorber les *poussières,* les *granulations* et les corps de petites dimensions, avec lesquels ils entrent directement en contact. On peut les saisir sur le fait en train de réaliser, ce phénomène, très intéressant au point de vue nosologique, quand ils s'emparent de micro-organismes. — Il suffit pour cela d'ajouter, à la lymphe à étudier, du *vermillon* fin délayé dans de

l'eau salée et titrée. Nous prenons volontiers pour cette expérience du vermillon anglais, en godets ou en tubes et préparé sous forme de couleurs moites, dites au miel (*moist colours* des Anglais). Avec un peu de patience, surtout si l'on applique la méthode des dessins répétés, exposée ci-dessus (p. 167), on réussira à voir la cellule lancer des prolongements amœboïdes contre les granulations et les englober.

i. Il n'est pas indifférent de rappeler que le vermillon s'aperçoit le mieux, dans les préparations microscopiques, à la *lumière tombante :* en mettant la main devant le miroir du microscope, les grains de couleur, même les plus petits, s'éclairent nettement en rouge; surtout si on les observe avec un objectif faible, permettant aux rayons lumineux ordinaires de tomber directement d'en haut sur la préparation *(lumière tombante).* Examiné à la *lumière transmise* (venant du miroir), le vermillon se voit en silhouette, sur le fond lumineux et apparaît plutôt avec une teinte noire.

k. En dessinant, comme nous l'avons dit plus haut, les globules chargés de couleur, on verra parfois aussi le contour extérieur de l'élément rester invariable; tandis qu'intérieurement, il y aura des *translations* étendues du protoplasma. On remarquera, en même temps, que les grains de vermillon ne pénètrent jamais dans la zone du noyau ; si on abandonne à elle-même une préparation semblable, en ayant soin d'y laisser des bulles d'air, le nombre des cellules chargées de vermillon augmentera progressivement.

Les recherches des microbiologistes modernes ont démontré que les leucocytes peuvent aussi s'emparer, comme ils le font pour les grains de vermillon, des micro-organismes, tels que spores, micrococques, bactéries, etc. (phagocytose de Metschnikoff). Ce fait a une grande importance en médecine, pour expliquer rationnellement la propagation des maladies infectieuses à travers l'organisme.

A. — Action des réactifs.

Au degré de dilution convenable, ils agiront comme *excitants;* plus concentrés, ils amèneront la *stupéfaction* et la *mort cellulaire,* avec des modifications variables.

Le *picro-carmin* tue et fixe les cellules dans la forme globuleuse; le protoplasma prend bientôt une légère teinte jaunâtre, tandis que le noyau se colore en rose.

L'*acide acétique* fixe légèrement. Il rend le noyau plus évident; sous son influence, les granulations protéiques et protoplasmiques disparaissent, les gouttelettes graisseuses et les autres granulations deviennent plus apparentes. Avec ce réactif, nous avons eu souvent l'occasion de constater, dans les leucocytes, contrairement à ce qu'ont affirmé beaucoup d'histologistes, des figures caryocinétiques bien nettes, surtout les étoiles-mères et les étoiles-filles.

La *solution aqueuse de iode* fixe et colore en jaune diffus toute la cellule ; de plus, elle fait apparaître les granulations glycogéniques, qui se trouvent si souvent dans les leucocytes.

L'*acide osmique,* appliqué à l'état liquide ou même sous forme de vapeurs, a une action tellement instantanée, que les globules sont fixés avec *leurs formes amœboïdes;* on pourra, par son intermédiaire, confectionner des préparations définitives de leucocytes gardant ces formes bizarres.

L'expérimentateur fera bien de se familiariser avec ces différentes réactions; car elles sont, à peu de chose près, les mêmes *pour toutes les cellules.*

On aura la preuve de ce que nous affirmons là en faisant la comparaison avec les résultats expérimentaux obtenus sur les cellules épithéliales à cils vibratiles (voir p. 152) et l'on se convaincra qu'on est là en présence de règles biologiques générales.

B. — Expériences indirectes sur les éléments de la lymphe.

Tout en venant confirmer et compléter les observations que nous venons de décrire plus haut, elles fournissent des notions précieuses pour la pathologie et la physiologie ; elles sont donc d'une grande importance pour qui veut comprendre le fonctionnement biologique des organismes supérieurs.

a. — Expérience avec la moelle de sureau.

Introduire dans le sac dorsal d'une grenouille des fragments de moelle de sureau, après avoir fait, au moyen des ciseaux fins cela va sans dire, une incision suffisamment grande, entre les deux yeux.

a. Au bout de 24 heures, on retirera un morceau de moelle pour l'examiner. On le débitera en coupes bien minces, qu'on étudiera en préparation dans de l'eau salée titrée, après avoir fait un cadre provisoire à la paraffine. — Il faudra se convaincre que les cellules polygonales de la moelle communiquent entre elles au moyen de petites *ouvertures*, qu'il ne faut toutefois pas confondre avec certains épaississements granuleux de cellulose. Les globules blancs se seront accumulés, en rangs pressés, dans la rangée superficielle des cellules de la moelle : mais ils auront aussi pénétré, en moins grand nombre il est vrai, dans les rangées suivantes, en passant à travers les ouvertures, qui, chose intéressante à noter, sont plus petites qu'eux. Conclusion : ils auront donc dû opérer une vraie *migration* active. On les verra d'ailleurs faisant encore des mouvements amœboïdes ; et même, avec un peu de patience, il ne sera pas impossible d'assister à leur passage actif à travers les parois de la moelle.

b. Après avoir attendu quelques jours encore, on tuera la grenouille, en détruisant avec une aiguille le système nerveux central, afin de ne pas faire souffrir l'animal inutilement. On retirera les autres morceaux restants ; ce qui ne pourra se faire qu'en décollant les lèvres de la plaie cutanée, à ce moment déjà plus ou moins ressoudées et reconsolidées. La quantité de lymphe contenue dans le sac lymphatique dorsal sera considérablement augmentée ; ceci est une conséquence directe de l'*irritation* prolongée produite par la présence de la moelle. Cette dernière sera difficile à retirer ; elle sera retenue aux parois du sac, par un peu de *tissu embryonnaire* nouvellement formé ; le reste du sac sera rouge et enflammé. — Si l'on examine au microscope des coupes de la moelle retirée du sac, on se convainc que les globules ont pénétré à une

grande profondeur; que les éléments situés loin des bords, sont devenus très paresseux et même immobiles, en même temps qu'ils sont chargés de nombreuses gouttelettes graisseuses. A la périphérie il y a un certain nombre de globules rouges, qui, dans la règle, ne dépassent jamais la première rangée de cellules médullaires, à moins toutefois d'y avoir été transportés par hasard, lors de la confection et du montage de la préparation. Il arrive quelquefois que la *fibrine* se coagule dans les cavités de la moelle, en donnant lieu à un magnifique réseau.

c. On obtiendra de belles préparations durables, comme souvenir de ces expériences, en fixant les coupes par l'alcool ou par l'acide osmique ; ou, mieux encore, en traitant des morceaux entiers que l'on coupera après. Il sera utile de faire des colorations rapides ou lentes et de monter à la glycérine et au baume. L'acide osmique fait bien ressortir et colore en noir les gouttes graisseuses contenues dans les globules, situés surtout dans la profondeur de la moelle de sureau, c'est-à-dire loin des moyens de nutrition.

b. — Expérience avec le vermillon.

On délayera une certaine quantité de vermillon fin dans de l'eau salée (celui des couleurs moites anglaises va très bien). On injectera, au moyen de la seringue de Pravaz, dans le sac lymphatique dorsal d'une grenouille, quelques centimètres cubes du liquide ainsi préparé. Parfois la grenouille se gonfle et expulse la plus grande quantité du liquide; il reste néanmoins généralement assez de vermillon dans le sac, car ce produit est très lourd et se dépose vite.

a. Au bout de 24 heures, la lymphe retirée du sac contient des globules, chargés, et même *gorgés*, de vermillon.

b. Si l'on attend plus longtemps, on ne retrouvera plus un grain de matière colorante à l'état *libre;* celle-ci aura été toute recueillie par les cellules. Quelques globules seront tellement surchargés, que la zone du noyau, restée libre, se dessine sous forme d'un champ clair.

c. De semblables éléments, vrais *gloutons,* ne tardent pas à

présenter une tendance marquée à la dégénérescence graisseuse; ils sont malades et meurent.

d. On pourra aussi, si on le désire, vermillonner d'autres animaux que des grenouilles et pratiquer l'injection dans d'autres régions: péritoine, plèvre, etc.

e. L'autopsie des organismes ainsi traités démontre que le vermillon a été charrié, à de grandes distances, dans toutes les parties de l'économie. Nous aurons l'occasion de revenir sur ce point important à propos du sang. (voir p. 180).

c. — Expérience combinée, avec le vermillon et la moelle de sureau.

Chez un animal préalablement vermillonné depuis quelques jours, on placera des morceaux de moelle de sureau. Les cellules qui pénétreront dans la moelle seront alors chargées de couleur.

De toutes ces expériences, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

1° L'*irritation* augmente considérablement la quantité de lymphe.

2° Les leucocytes sont des cellules essentiellement *mobiles* et *errantes*, qui peuvent englober les *corps étrangers* et les *porter* à des distances considérables.

3° Quand ces éléments sont trop éloignés des sources de nutrition, ils se chargent de graisse et meurent; il en est de même quand ils sont trop surchargés de matières étrangères.

4° Les *corps étrangers* (morceaux de moelle), implantés dans l'économie, ont la tendance à s'*isoler*, en s'entourant d'une *capsule* de tissu nouvellement formé.

5° Disons cependant que, parfois, ces corps entraînent avec eux des *matières septiques* et deviennent une source d'infection ; ceci, on ne devra pas l'oublier, devient une cause d'insuccès, pouvant même amener la mort des animaux en expérience [1].

[1] Parfois, et à elle seule, l'irritation mécanique qu'occasionne un corps étranger, implanté dans l'économie, est capable de provoquer la suppuration, sans qu'il y ait eut la moindre trace d'infection.

CHYLE

Il ne présente point de différence fondamentale avec la lymphe. Si l'on vient à sacrifier un animal, *en pleine digestion* et préalablement gavé de corps gras, on pourra examiner le liquide des vaisseaux lacticifères du mésentère.

Le chyle présente, outre les éléments ordinaires de la lymphe, une masse de *granulations graisseuses,* pourvues d'une *membrane* de nature albumineuse. Traitées par l'acide osmique, ces granulations deviennent noires, et l'on voit, avec un fort grossissement, la paroi albumineuse sous forme d'un contour clair ; sous l'influence de l'acide acétique, la membrane se dissout et les gouttelettes peuvent confluer ensemble ; soumises à l'action de l'éther, du chloroforme et de tous les réactifs dissolvants de la graisse, les membranes se plissent en se vidant.

III. — LE SANG

C'est le liquide nourricier principal des organismes supérieurs, le *véhicule* d'apport et de départ de toutes les substances nutritives de l'économie. Il est renfermé dans le système de canaux et de cavités closes, tapissées par un revêtement cellulaire endothélial continu, qui constituent l'appareil circulatoire. Perpétuellement poussé par la pompe cardiaque, il *circule* dans toutes les parties du corps et alimente la circulation lymphatique. En effet, toute la masse sanguine, qui passe par les artères, ne revient pas par les veines : une petite partie traverse la paroi vasculaire, se met en contact intime avec les tissus et pourvoit à leur nutrition, pour revenir ensuite se jeter dans les gros troncs veineux, en passant par les ganglions et les gros troncs lymphatiques.

Au point de vue morphologique le sang de l'homme et des animaux supérieurs présente à considérer :

I. — Des éléments figurés :

1° *Globules rouges* (hématies).
2° *Globules blancs* (leucocytes).
3° *Plaquettes sanguines*.
4° *Granulations graisseuses*.

II. — Un liquide fondamental, *sérum sanguin*.

Eléments figurés. Ils varient suivant les espèces animales. Les animaux inférieurs ont du *sang blanc*, à une ou deux exceptions près ; les vertébrés ont tous du *sang rouge*.

Les *globules rouges* sont de deux types principaux : *discoïdes* et sans noyau ; *elliptiques* et à noyau. Les premiers, représentés chez l'homme, ont une forme discoïde générale, biconcave au centre et arrondie sur les bords. Les seconds, bien dessinés chez la grenouille et chez les amphibiens en général, sont elliptiques aplatis, légèrement renflés au centre, au niveau du noyau et mousses sur les bords (voir fig. 107).

Les hématies sont douées d'une élasticité parfaite ; lorsque une pression accidentelle les déforme, elles reprennent instantanément leur forme première, dès que cette action cesse. Elles sont formées d'un *réticule* et d'une *substance fondamentale*, renfermant une matière colorante particulière : l'*hémoglobine*, qui a la propriété singulière de fixer les gaz respiratoires, en engendrant de l'*oxyhémoglobine* et de l'*hémoglobine oxycarbonée*.

Les *globules blancs* sont identiques à ceux de la lymphe (voir p. 164).

Les *plaquettes sanguines*, (*piastrine* des Italiens, *Blutplättchen* des Allemands), entrevues depuis longtemps par Max Schultze, par Mantegazza et par Hayem, n'ont bien été décrites que dans ces dernières années, par Bizzozero. Elles jouent un rôle capital dans l'économie. Elles s'altèrent avec la plus grande facilité, en donnant lieu aux *vésicules de Zimmermann*. Connues depuis longtemps et prises pour des éléments figurés constants du sang, ces dernières sont incolores et plus petites que les globules rouges. Les plaquettes sanguines possèdent un noyau, quand les hématies en ont un. L'altération des plaquettes est en connexion intime avec la production de la fibrine.

Les *vésicules graisseuses* proviennent, sans doute, de la digestion ; déversées dans le torrent circulatoire avec le chyle, elles ne franchissent pas la circulation pulmonaire.

Liquide fondamental, ou sérum. On l'obtient après la coagulation, ou bien après battage du sang ; c'est le liquide qui se sépare au moment de la rétraction du caillot. Le sérum frais est

citrin, transparent et se prend en masse compacte, en donnant lieu à un précipité albumineux, quand on le chauffe ou qu'on le traite par les acides.

Abandonné à lui-même, le sang se coagule en un *caillot*, qui ne tarde pas à se rétracter, en expulsant une partie du sérum et en enserrant, dans ses mailles, les éléments morphologiques. Le caillot présente parfois, à sa surface, une couche blanche, à laquelle on a donné le nom de *couenne*. Sa présence est liée à celle des globules blancs, lesquels, plus légers que le sérum, montent à la surface, avant la coagulation, tandis que les hématies, plus lourdes que le sérum, descendent au fond du vase. Le *battage* empêche la coagulation de se produire ; l'instrument, qui a servi à battre le sang, se recouvre alors d'une couche blanchâtre et formée, en grande partie, par la *fibrine* qui s'est déposée.

Etude pratique du sang.

Elle doit être poursuivie de deux façons différentes : 1° dans le sang retiré *hors de l'économie*, et 2° *dans le torrent circulatoire* lui-même.

1. — Manière de s'en procurer.

Variable, suivant le but cherché :

a. — Animaux à sang froid. Grenouilles, tritons, etc. Il faudra d'abord détruire le système nerveux central, en introduisant une aiguille mousse dans la cavité crânienne et le canal rachidien, pour détruire l'appareil nerveux central. Ensuite, on ouvrira le thorax, en ayant soin d'éviter les gros vaisseaux (veine thoracique, troncs brachio-céphaliques, etc.). On mettra le cœur à nu ; on ouvrira le sac péricardique ; puis, renversant l'animal, on donnera un coup de ciseaux dans les cavités cardiaques. Le sang qui s'écoulera sera immédiatement recueilli dans un godet propre, et dilué de suite, si cela est nécessaire, au moyen de chlorure de sodium (à 7 1/2 °/oo), ou de tout autre réactif (sulfate de soude, etc.).

b. — *Animaux à sang chaud.* Même procédé que ci-dessus, mais après avoir *endormi* l'animal avec de l'éther ou du chloroforme.

Autre méthode : ouvrir un gros vaisseau artériel (carotide, fémorale), ou veine (jugulaire) ; recevoir le sang dans un récipient ; opérer ou non, suivant les cas, le battage pour défibriner.

Chez l'homme, on pourra faire une simple *piqûre,* en enfonçant brusquement, dans la pulpe du doigt, une aiguille à dissocier bien propre et qu'on tiendra près du bout, pour empêcher une pénétration trop profonde. Pour désinfecter l'instrument, le mieux c'est de le passer au feu. — Ou bien, on fera une légère *coupure.* — Ou bien encore, on emploiera le piqueur pour l'hémomètre du Dr Laker (fig. 110). Si l'on veut faire une numération des globules, ce procédé est plus exact.

Pour obtenir de suite, par la méthode de la piqûre directe, du sang dilué, il faut placer d'abord une goutte de liquide additionnel sur la peau, et piquer au milieu de la goutte : ainsi, le mélange s'opérera, en même temps que le sang s'écoule.

2. — Méthodes d'examen.

Il est indispensable de répéter la même série d'expériences sur du sang d'espèces animales différentes.

Pour commencer, on fera rapidement une *préparation diluée* de sang (chlorure à 7,5 ‰) ; on bordera la préparation à la paraffine et on examinera avec soin, à tous les grossissements.

On sera tout de suite frappé du fait que les *hématies* ont une teinte jaunâtre, même un peu verte, dichroïque ; mais beaucoup plus faible qu'on ne s'y attendait, en voyant le sang à l'œil nu. Il faut admettre qu'il y a *multiplication* de l'absorption de certains rayons lumineux, par le passage répété de ceux-ci à travers un grand nombre de globules rouges. Le terme de *globules rouges* est donc inexact, au point de vue microscopique pur ; celui d'*hématies* nous paraît meilleur, à tous égards.

En exerçant de légères pressions sur la lamelle, on verra comment les globules, si *élastiques,* reprennent facilement leur forme

habituelle. Un petit nombre d'hématies dans le sang, aussi bien nucléées que non nucléées, ont la forme sphérique *(globules de Neumann).*

Les globules rouges donnent lieu, au microscope, à des jeux de lumière très compliqués et difficiles à bien interpréter; mais très instructifs. Nous avons essayé, en traçant une épure mathé-

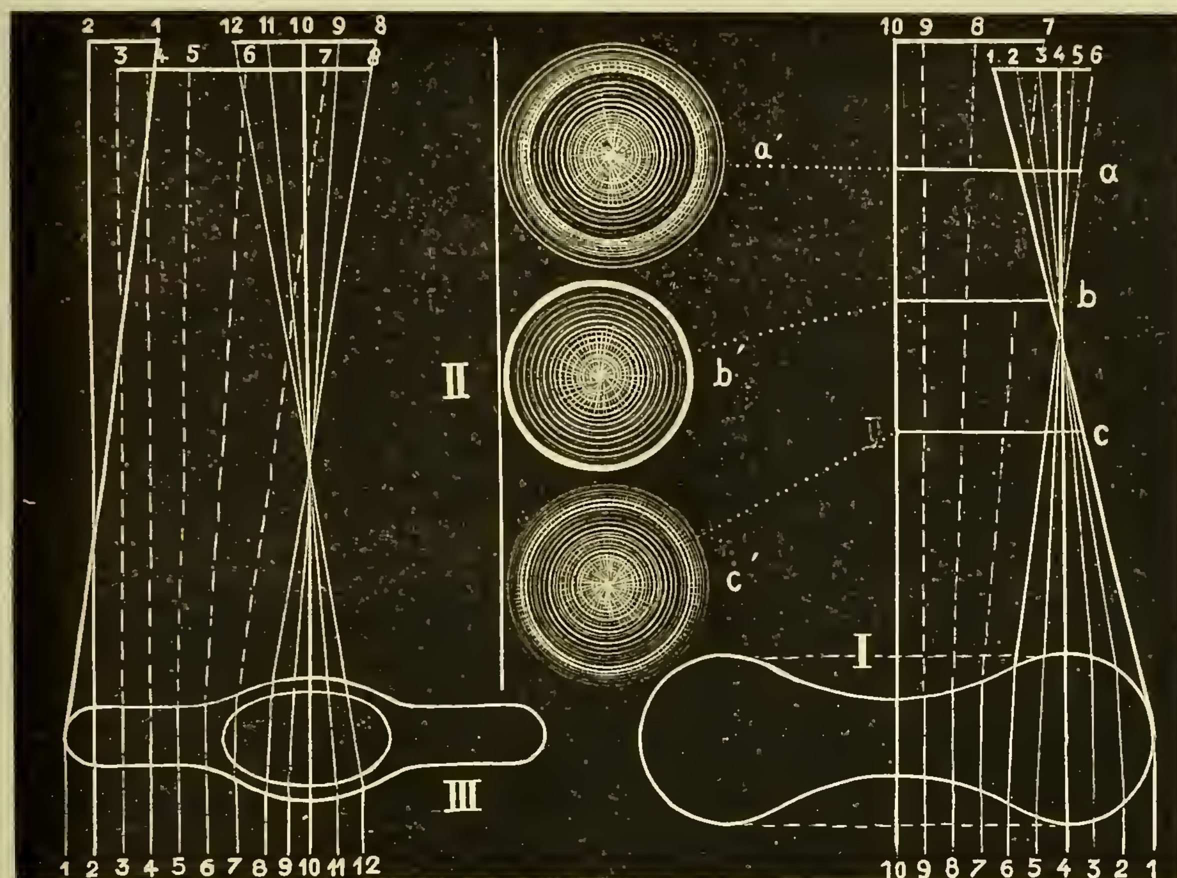


Fig. 107. Epure mathématique de la marche des rayons lumineux dans les hématies nucléées et non nucléées (dessin de l'auteur).

I. Marche des rayons lumineux (1, 2, 3, etc.), à travers un globule rouge du sang humain. — *a, b, c,* hauteurs différentes du plan optique.

II. Images *(a' b' c')* fournies par une hématie de l'homme, suivant le niveau (I, *a, b, c,*) du plan optique du microscope, c'est-à-dire suivant la hauteur de la mise au point. — On remarque que la grandeur apparente des globules varie suivant la hauteur de la mise au point.

III. Marche des rayons lumineux (1, 2, 3, etc.) dans une hématie à noyau (grenouille).

matique (fig. 107), de rendre un compte exact de la marche des rayons lumineux au travers des globules de l'homme et de la grenouille. Cette étude démontre combien il faut se méfier des illusions d'optique, dans les observations au microscope. On remarquera, entr'autres que, dans la fig. 107, le rayon 1, venant du bord, est réfracté en dedans, tandis que le rayon 6, venant de l'intérieur du globule, vient simuler la limite marginale du glo-

bule. (Voir notre mémoire original, in *Revue méd. de la Suisse romande*, 1884, p. 328.)

Les *globules blancs* seront, vu leur nombre relativement petit, plus difficiles à trouver; on se convaincra qu'ils jouissent tout à fait des mêmes propriétés que ceux de la lymphe (voir plus haut pp. 164 et 166). Leur identité avec ceux-ci est facile à prouver, par la *méthode au vermillon:* si l'on retire du sang à une grenouille, vermillonnée depuis quelques jours, par injection dans un des sacs lymphatiques (voir p. 173), les globules du sang renfermeront aussi du vermillon; ils ont donc émigré du *système lymphatique*, dans le système sanguin, en suivant les voies lymphatiques préformées: vaisseaux, cœurs lymphatiques, etc.

Quant aux *plaquettes sanguines*, leur altération rapide ne permettra pas facilement de les retrouver intactes; mais on verra bien, par contre, les résidus de leur altération, c'est-à-dire les *vésicules de Zimmermann*, sous forme de grains très réfringents, brillants et de dimensions minimes. Dans quelques cas très rares, — comme nous avons pu le constater chez la grenouille et, surtout encore mieux, chez les crapauds, — on peut assister directement à la *transformation* des plaquettes en vésicules, et voir comment il s'en détache des *filaments*, qui finissent par constituer le réseau de fibrine. Abandonnée à elle-même, une semblable préparation microscopique fera voir, progressivement et d'heure en heure, les altérations successives des éléments, qui résulteront, en grande partie, de la *concentration* par évaporation légère, et cela, malgré la fermeture hermétique du cadre de paraffine.

Altérations du sang et des globules rouges. Les modifications que subissent les globules rouges méritent une étude attentive et détaillée; il sera absolument indispensable, si l'on veut vraiment faire de bonnes observations, de répéter chaque expérience sur une préparation toute fraîche. Il est important de savoir exactement les altérations que subissent les hématies, de manière à pouvoir en tout temps reconnaître et retrouver ces éléments importants, lesquels, dans leurs transformations multiples et

parfois bizarres, se comportent comme de véritables protées de l'histologie. La grande altérabilité de ces éléments empêche, pour ainsi dire, complètement d'en faire de bonnes préparations définitives; il faudra donc les étudier, avec d'autant plus de soin, dans les préparations temporaires.

a. Dans des préparations *abandonnées à elles-mêmes*, les globules rouges ne tarderont pas à se ratatiner légèrement, en prenant un aspect froncé, étoilé ou dentelé : en forme de massue de vieux Suisses, pour les hématies sans noyau ; avec des contours onduleux et des stries radiaires, pour les globules à noyau. Leur hémoglobine diffuse dans le sérum et colore celui-ci en jaune clair. Les globules blancs meurent aussi, mais plus tardivement : leur protoplasma devient transparent et leur noyau bien visible (voir plus haut, lymphe p. 169). Les vésicules de Zimmermann se maintiennent sans changement : une fois produites, elles sont extraordinairement résistantes à toutes les actions ; nous notons ce fait une fois pour toutes, car on les voit généralement persister les dernières dans les préparations.

b. En *chauffant* à un degré de plus en plus élevé, sur une lampe ou sur un bec de gaz, des préparations fraîches de sang, on voit les globules devenir légèrement dentelés, puis sphériques, en même temps qu'ils laissent diffuser leur hémoglobine dans le liquide environnant. Vers 60°, ils poussent des prolongements d'aspect huileux et qui se détachent bientôt, en donnant lieu à des gouttelettes arrondies. Si on élève encore plus la température, tout tend à disparaître et il ne reste plus en définitive que de petits corps jaunâtres arrondis, à surface parsemée de rides fines et renfermant assurément les restes du réticule cellulaire ratatiné.

On peut faire agir la chaleur autrement, en appliquant, quelques secondes, sur la lamelle d'une préparation fraîche, un barreau épais de métal, fortement chauffé. Une étude attentive, à partir du point touché, fera saisir tous les intermédiaires des transformations.

Les décharges électriques répétées amènent des résultats très analogues à ceux produits par la chaleur.

c. L'application de *solutions concentrées* provoque le ratatinement des éléments ; les *solutions diluées* les font gonfler et devenir arrondis. On peut faire intervenir successivement, sur la même préparation, ces deux ordres de réactifs ; à cet effet, après avoir entamé le cadre de paraffine, on fera d'abord passer, au moyen de papier buvard, un courant de liquide concentré, le *chlorure de sodium,* par exemple ; puis, une fois le ratatinement obtenu, on appliquera de l'eau *ordinaire* ou *distillée* et l'on obtiendra le résultat inverse.

d. Quant aux *réactifs chimiques* proprement dits, ils ont, suivant les cas, une action très différente.

L'*acide acétique* décolore rapidement les hématies et fait apparaître leurs noyaux, quand elles en sont pourvues. Le *picro-carmin* les fixe relativement bien, mais d'une façon temporaire, dans leur forme et teinte les noyaux en rose.

La solution aqueuse *iodée* les colore en jaune et les fixe temporairement.

L'*acide osmique,* seul ou combiné à d'autres réactifs, a une action fixante plus parfaite, mais cependant non durable ; il teinte en noir les granulations graisseuses libres ou dans les globules blancs. Les *alcalis* dissolvent tout avec une rapidité variable ; il en est de même de la bile.

Il sera nécessaire que l'observateur exécute des *dessins* nombreux, de façon à saisir, chaque fois sur le fait, et dans leurs nuances fines, toutes les altérations que nous venons de signaler. La comparaison des croquis obtenus sera très instructive.

e. On peut essayer de faire, selon la méthode de Welcker, des *préparations définitives* de globules desséchés, en mettant une goutte de sang tout frais sur une lame, et en agitant celle-ci rapidement dans l'air pour produire une évaporation pour ainsi dire instantanée ; quand ce procédé est bien appliqué, le sang s'étale en nappe très fine et se dessèche si vite, que les éléments n'ont pas le temps de se déformer sensiblement. — On verra alors, sous le microscope, les hématies posées de plat et assez bien conservées ; les leucocytes seront très reconnaissables aussi. En

recouvrant avec une lamelle, qu'on fixera avec un cadre de papier enduit de gomme arabique, on aura une préparation définitive assez présentable. Il faut se garder de mettre du vernis ou du bitume ; ces ingrédients, en absorbant l'air dont ils sont très avides, finissent toujours par pénétrer sous le porte-objet.

f. Les *plaquettes sanguines* sont difficiles à étudier en préparations microscopiques ; il est impossible, à plus forte raison, d'en faire de bonnes préparations durables. Cependant, on pourra pratiquer un bon examen microscopique sommaire, en procédant de la manière suivante :

On préparera un peu de solution fraîche de chlorure de sodium à 7,5 $^0/_{00}$, à laquelle on ajoutera une petite quantité de violet de méthyle, dans le rapport de 5000 à 1, environ. Puis, l'on opérera le mélange du sang (humain, de chien, etc.) et de la solution, directement sur la piqûre. Le chlorure de sodium et le violet de méthyle titrés ont la propriété de retarder la destruction des plaquettes ; si l'on procède avec quelque habileté, on pourra ainsi voir ces éléments, encore intacts, et suivre leurs transformations qui s'opèrent avec une certaine lenteur.

g. Un autre procédé consiste à exciser une membrane mince, comme le mésentère par exemple, à un animal qu'on vient de sacrifier ; à l'étaler et à en confectionner rapidement une préparation dans du chlorure de sodium à 7,5 $^0/_{00}$. Les plaquettes, contenues dans les vaisseaux sanguins encore vivants et adhérentes aux parois, se conservent parfois plusieurs heures ; on pourra, par ce procédé, assez commode, les examiner à loisir.

h. Mais il vaudra mieux encore les étudier dans le sang *en circulation* (voir plus loin, p. 185).

Les plaquettes de l'homme, du chien et des mammifères en général, ont la forme de disques aplatis et à faces plus ou moins planes. D'après Bizzozero, elles ne renferment *pas d'hémoglobine*. Chez la plupart des amphibies, elles sont pourvues de noyaux et ont toutes sensiblement le même aspect, avec leur extrémité souvent effilée en pointe ; chez les animaux pourvus de globules rouges nucléées, elles sont toujours plus petites, sans noyau et incolores. Dans les préparations en repos, les plaquettes adhèrent

soit aux objets (paroi vasculaire, lame et lamelle), soit entre elles, soit encore aux globules blancs environnants; dans ce dernier cas, elles forment des groupes plus ou moins nombreux, et c'est de ces groupes que la fibrine prend ensuite son point de départ.

3. — Etude de la fibrine.

a. On pourra *dissocier* et relaver à l'eau ordinaire un fragment de caillot sanguin ordinaire, qu'on examinera ensuite, sans autre, sous le microscope. Cette méthode est peu démonstrative.

b. Il vaut mieux procéder autrement : on mettra sur un porte-objet une goutte épaisse de sang pur, qu'on couvrira, délicatement et de suite, d'une lamelle; on bordera soigneusement à la paraffine et on laissera reposer le tout, pendant 24 heures au moins, afin que la coagulation s'effectue bien. Au bout de ce temps, l'image microscopique formée sera celle d'une masse rouge, diffuse et uniforme. Pour rendre la fibrine apparente, il faudra soulever doucement la lamelle, éloigner la paraffine et *relaver* à l'eau pure. L'hémoglobine s'en ira, et la fibrine restera en partie adhérente au porte-objet.

c. En couvrant d'une nouvelle lamelle, on verra la *fibrine* sous forme d'un réticule très ténu, très délicat et enserrant les *vésicules de Zimmermann* et les *globules blancs* facilement visibles ; quant aux *globules rouges*, ils seront gonflés, arrondis et difficiles à retrouver pour commencer (Blutschatten des Allemands).

d. Il ne faudrait pas confondre les images de ces derniers, avec celle du réticule fibrineux lui-même. C'est dans l'eau, et non dans la glycérine, dont l'indice de réfraction est trop élevé, que les fines fibrilles fibrineuses sont le plus facile à apercevoir, surtout si l'on sait régler convenablement l'éclairage.

e. Traité par l'acide acétique, le réseau de fibrine s'éclaircit et ne tardera pas à se dissoudre complètement : cette propriété est précieuse dans certains cas. Dans les préparations à la glycérine, les grosses fibres du réticule fibrineux sont seules perceptibles, et encore avec une certaine difficulté.

f. Pour faire des préparations définitives dans ce milieu, il sera

nécessaire de *colorer* longuement, dans du picro concentré, ou dans certaines couleurs d'aniline.

g. La fibrine, ainsi colorée, gonfle et disparaît sous l'influence de l'acide acétique. Il est bon de se souvenir de ces réactions importantes dans la pratique.

4. — Cristaux du sang.

Leur recherche, avant l'application du spectroscope, était de rigueur en médecine légale.

L'*hémoglobine* est difficile à obtenir d'une manière constante. Il faut prendre du sang défibriné, ajouter, dans une éprouvette, de l'éther ou du chloroforme et laisser cristalliser. La forme des cristaux est constante pour chaque espèce animale, mais varie sensiblement d'une espèce à l'autre.

Le *chlorhydrate d'hématine* s'obtient plus facilement, en laissant sécher naturellement une goutte de sang ordinaire sur un porte-objet, en ajoutant ensuite une goutte d'acide acétique bien glacial et en chauffant jusqu'à l'ébullition. Par l'évaporation du liquide, qui a pris une teinte brune, on obtient des cristaux rhomboèdriques caractéristiques. Il faut éviter de trop chauffer quand on évapore l'acide, autrement les cristaux seraient détruits.

Il suffit d'ajouter une goutte de glycérine, ou mieux de baume, et de couvrir d'une lamelle, pour obtenir une bonne préparation durable. Dans quelques cas, les cristaux ont de la peine à se former ; il faudra alors essayer d'ajouter un peu de sel de cuisine. Nous avons trouvé fréquemment au laboratoire des sujets, qui ne fournissaient pas, malgré tous les efforts, la moindre trace de cristallisation.

Ajoutons que l'*examen au spectroscope*, du sang et de ses produits, est extrêmement intéressant. Mais il demande des instruments spéciaux coûteux, de l'exercice et une habileté particulière.

5. — Observation directe de la circulation sanguine.

Elle se pratique le mieux sur les organes membraneux, et, de préférence, chez les animaux à sang froid : la grenouille, la sala-

mandre, les têtards, etc. On peut cependant utiliser aussi des animaux à sang chaud : le rat, le lapin, etc.

Avec la grenouille ou le crapaud, qui se prêtent admirablement à ce genre d'expérience, on procédera comme suit :

Il faudra d'abord *curariser* l'animal : on réussira le mieux, en trempant un petit tortillon de papier à filtrer dans un peu de curare délayé à l'eau ; et en glissant, par une petite incision pratiquée entre les deux yeux, ce tortillon dans le sac lymphatique dorsal. En procédant ainsi, on sera tout à fait maître de régler l'action du poison. — L'*éther* ou le *chloroforme* donnent de moins bons résultats.

Une fois l'immobilité obtenue, on pourra étudier successivement : la *membrane interdigitale,* la *langue,* et le *mésentère* (fig. 108), après les avoir étalés, avec des épingles sur une plaque de verre munie d'un liège *ad hoc.* On pourra aussi examiner le poumon avec l'appareil de Holmgren (fig. 67). Pour la patte, il faut étaler la face palmaire en haut. La langue de la grenouille, qui a une forme particulière, demande à être déplissée, en ramenant d'abord sa partie postérieure en avant, avant de l'étaler.

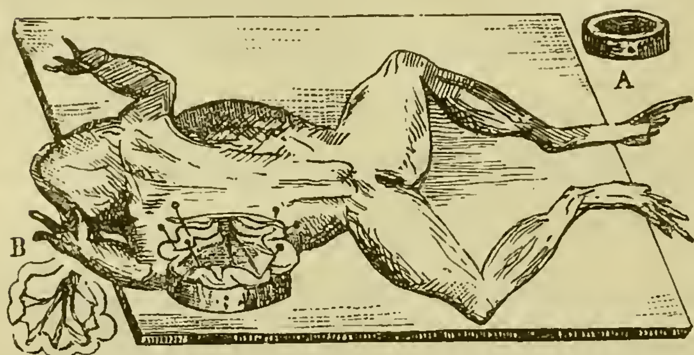


Fig. 108. Grenouille avec le mésentère étalé sur une rondelle de liège, collée sur une plaque de verre. — B, Mésentère. — A, rondelle de liège. La figure a été retournée à la gravure. (D'après un dessin de l'auteur.)

Durant ces expériences, l'animal devra être enveloppé d'un linge ou de papier buvard humectés, ou, mieux encore, d'un linge mouillé, afin d'empêcher qu'il ne se *dessèche;* car il ne faut pas oublier que l'animal a conservé sa sensibilité, qu'il souffre et que la respiration ne se fait plus que par la peau. Il faut éviter de *tendre trop* les parties, en les étalant. L'excès de tension est une cause d'arrêt de circulation dans les tissus ; si la tension dure trop longtemps, elle finit par provoquer la gangrène. La curarisation, agissant aussi sur le muscle cardiaque, amène un ralentissement dans la marche du sang, circonstance éminemment favorable à l'observation.

a. On observera chaque fois le tableau général de la circulation dans les artères, les veines et les capillaires, en appliquant d'abord de faibles grossissements. On s'attachera ensuite à observer plus particulièrement les points suivants : le liquide sanguin marche beaucoup plus rapidement dans l'axe (*courant axial*) qu'à la périphérie (*courant périphérique*) ; les globules rouges circulent *rapidement* dans l'axe, en se laissant facilement déformer par les obstacles qu'ils rencontrent sur leur route (vaisseaux étroits, éperons de bifurcation) ; les globules blancs marchent *lentement* et comme par soubresauts, avec une tendance marquée à adhérer à la paroi vasculaire et même à s'arrêter complètement ; les plaquettes sanguines circulent *indifféremment* dans toute la lumière vasculaire ; elles vont en général *isolées*, ou, exceptionnellement et dans des conditions déjà pathologiques, *groupées* ensemble.

b. Lorsque l'expérience aura duré un certain temps, les *phénomènes inflammatoires* commenceront à s'établir : alors peut-être, avec un peu de patience, on verra les globules blancs *traverser d'une manière active*, la paroi des capillaires ; une fois l'ouverture pratiquée, les globules rouges pourront suivre *passivement* le même chemin, poussés par le courant plasmatique sanguin.

c. On ne négligera pas d'observer les particularités distinctives de chaque ordre de vaisseaux sanguins ; tous les détails importants sont déjà saisissables sur le vivant.

d. La *contractilité*, très marquée sur les artères, se verra le mieux en pinçant directement le vaisseau, avec une pince fine ; ou bien, en le touchant avec une aiguille légèrement chauffée. On obtiendra ainsi un étranglement local, qui persiste parfois fort longtemps.

e. Si la paroi vasculaire a été altérée, les plaquettes sanguines et quelques globules rouges s'amasseront contre elles, en s'agglomérant ; il y aura formation d'un *thrombus*. La thrombose pourra, dans les cas extrêmes, aller jusqu'à l'*oblitération* complète du vaisseau. On obtient le même résultat d'une manière plus nette encore, en plaçant, à côté du vaisseau, un petit cristal de chlorure

de sodium; ou bien en touchant avec une aiguille, chauffée au degré voulu.

f. Enfin, pour terminer, on se rendra compte de la production du thrombus dans les cas d'*hémorragie*. A cet effet, avec des ciseaux fins, on ouvrira délicatement le vaisseau, sous le microscope même: le sang s'écoulera d'abord en tourbillons pressés; puis l'hémorragie se rallentira de plus en plus; et l'on verra bientôt se former, sur les bords de la coupure, un *bouchon blanc* de nature thrombotique.

g. Les mêmes expériences pourront être répétées identiquement avec le mésentère des *animaux à sang chaud*. Dans ce cas, la *narcose*, par l'éther ou le chloroforme, est souvent plus pratique que la curarisation.

h. Les parties qui auront été mises en observation pourront être gardées en *préparations définitives*. Ainsi, pour le mésentère, après l'avoir arrosé avec un peu d'alcool, on le mettra colorer au moins 24 heures dans du picro-carmin concentré; on le relavera soigneusement; et on le montera à la glycérine acidifiée, ou au baume après deshydratation et, si on le désire, après action de l'acide acétique. Voir, à ce sujet, ce que nous avons dit sur les colorations par le carmin (p. 74). Pour bien réussir, la fixation à l'alcool devra être pratiquée pendant que les parties sont encore tendues.

Chemin faisant, on s'empressera de lever rapidement un grand nombre de croquis des changements produits.

Il va sans dire que toutes ces expériences prendront plusieurs heures et qu'il faudra prendre des précautions contre le *dessé-chement* de la partie en observation : on aura soin d'humecter avec du chlorure de sodium les parties qui tendraient à se dessécher; et, toutes les fois que cela aura été possible, on couvrira, avec une lamelle de la grandeur voulue, la partie en observation, pour obvier à l'évaporation et pour rendre l'image plus nette (voir p. 37 et fig. 50). Cette dernière précaution est, du reste, indispensable quand on applique de forts grossissements, soit pour la netteté de l'image, soit pour la préservation des lentilles.

Il ne faut pas oublier que les animaux curarisés restent *sensibles;* il faudra donc éviter de les faire souffrir inutilement, et, une fois l'expérience terminée, on achèvera de les tuer de suite, en détruisant le système nerveux central. Nous avons parfois assisté, dans certains laboratoires, à de vraies martyrisations repoussantes et parfaitement superflues, des animaux.

6. — Préparations au nitrate d'argent.

On complétera avec avantage les notions acquises sur les vaisseaux, en faisant des préparations imprégnées au nitrate d'argent.

On pourra imprégner, directement et en masse, le mésentère de la grenouille; ou, mieux encore, injecter ce réactif très dilué, dans le torrent circulatoire de tout l'animal en entier, et fixer par l'alcool. Les morceaux, débités en coupe ou autrement, ou bien simplement étalés, seront montés au baume du Canada et exposés au soleil pour favoriser la réduction.

7. — Numération des globules sanguins.

Les procédés en usage sont *directs* ou *indirects.*

a. Procédés indirects. Ils sont plutôt du ressort du chimiste que de celui du micrographe. Ils consistent à doser la quantité d'hémoglobine, au moyen d'*appareils photométriques* spéciaux.

L'*hémochromomètre* du Dr v. Fleischl (fig. 109 et 110) est d'un usage très commode. Il consiste en une loupe, sous laquelle on peut faire des comparaisons, entre un volume de sang déterminé, dilué à un titre connu, et un prisme de verre coloré, dont l'épaisseur croissante donne des teintes de plus en plus foncées. Des graduations et une tabelle *ad hoc* indiquent, au moyen d'une simple lecture, le degré de richesse en hémoglobine et, partant, la proportion de globules rouges.

b. Procédés directs. Dans leur principe, ils consistent généralement à *diluer* une quantité déterminée de sang avec une portion donnée d'un liquide additionnel indifférent : solutions

salée, sucrée, de gomme arabique, etc. Puis à faire passer ce liquide, dans un espace capillaire *de dimensions connues,* porteur d'un porte-objet quadrillé, et à compter directement, au microscope, le nombre des globules contenus dans cet espace. On

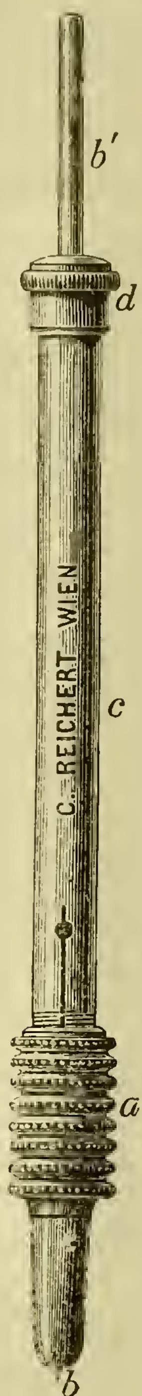


Fig. 110. Piqueur du Dr Laker, pour l'hémochromomètre du Dr v. Fleischl (de Reichert, à Vienne).
a. Vis de serrage.
bb'. Pointe.
c. Manche.
d. Vis de réglage.

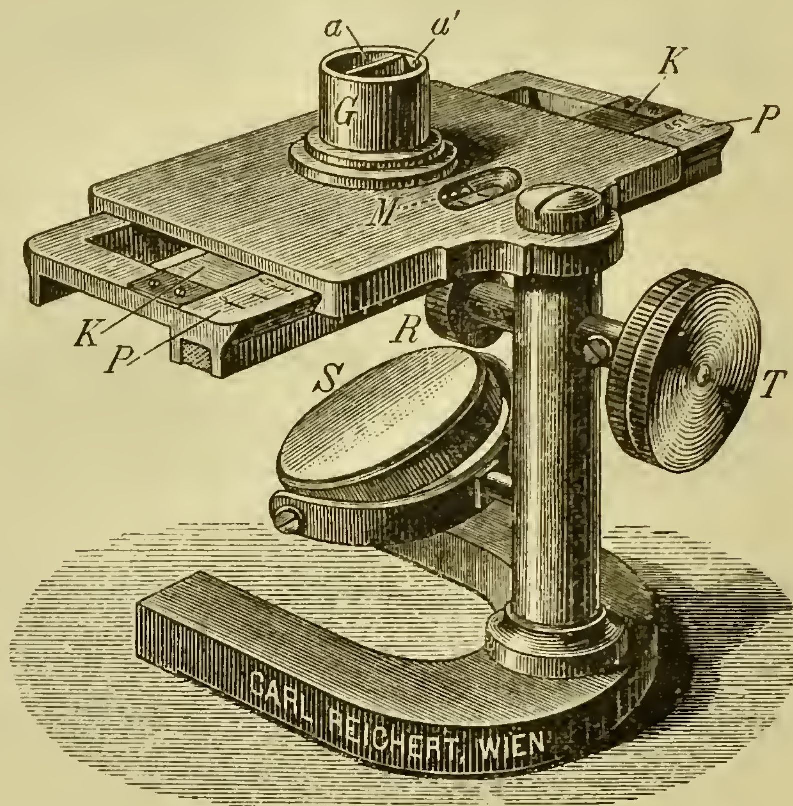


Fig. 109. Hémochromomètre du Dr v. Fleischl (de Reichert, Vienne).
G Récipient à deux cases : *a,* destinée à être remplie du sang dilué ; et *a'* destinée à rester vide.
K Prisme à étalon en verre coloré, à observer à travers la case vide *a'*.
M Orifices pour lire les graduations, qui correspondent à une tabelle indiquant le degré de richesse du sang.
P Charriot, porteur du prisme coloré *K* et muni d'une échelle graduée, visible dans le dessin.
R Pignon pour déplacer le charriot *P*.
T Bouton molleté du dit pignon *R*.
S Miroir formé d'une surface réfléchissante, blanche et opaque.
Nota : L'observation se fait à la lumière artificielle, d'une lampe ou d'un bec de gaz.

peut aussi observer un espace capillaire, de dimensions connues, au moyen de l'oculaire à réticule quadrillé (fig. 98). — Par une simple opération d'arithmétique, il sera possible ensuite de déterminer le nombre exact de globules, dans un volume donné de sang.

Pour l'homme, on admet généralement : 5,000,000 de globules rouges et 8,000 globules blancs, par millimètre cube de sang.

Le compte-globules de Malassez (fig. 111, 112 et 113), avec sa nouvelle modification, très pratique (*Archives de Physiol. norm. et path.* 1881, IIme Série, Vol. 7, p. 377), permet de faire ces

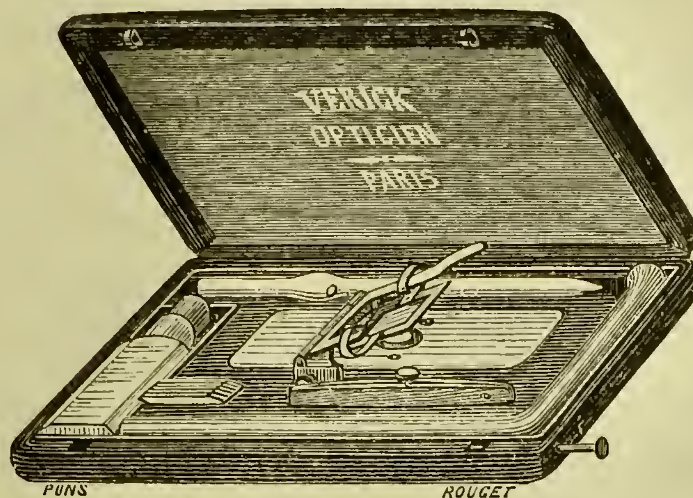


Fig. 111. Compte-globules Malassez, dans son étui (de Stiassnie, successeur de Vérick, à Paris).

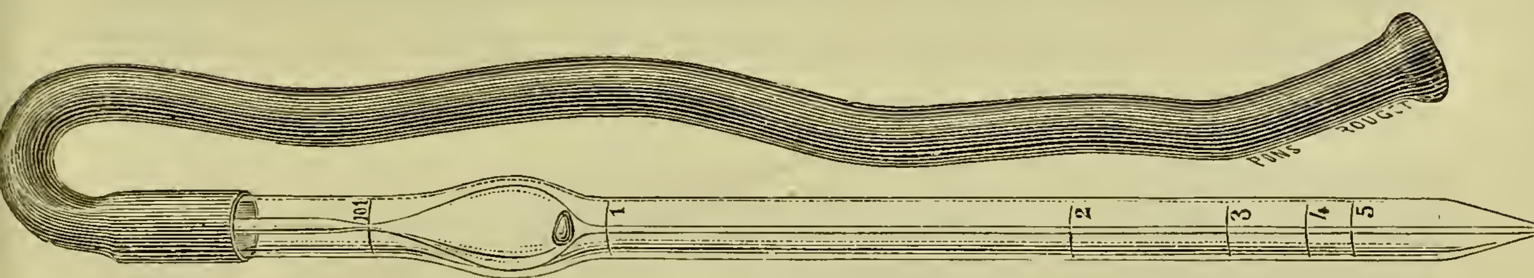


Fig. 112. Tube mélangeur du compte-globules Malassez.

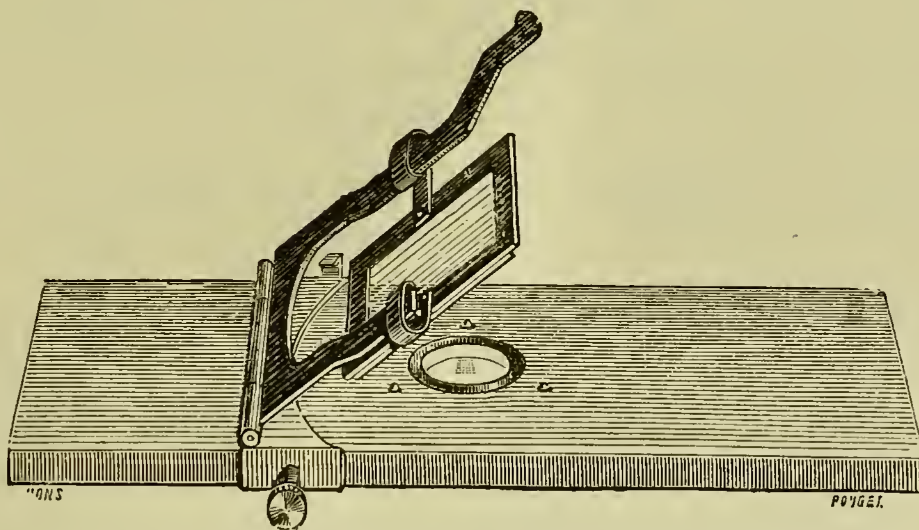


Fig. 113. Porte-objet quadrillé du compte-globules Malassez, donnant un espace microscopique de dimensions fixes et connues.

diverses opérations avec commodité et rapidité. Les résultats qu'il fournit sont assez précis, pour permettre, dans la pratique journalière, de faire des comparaisons fructueuses.

IV. — LES TISSUS CONJONCTIFS PROPREMENT DITS

I. — Propriétés générales.

Le tissu connectif est d'autant plus développé et différentié, qu'on s'élève dans la série animale; il sert de *trame* et de *support* aux différents organes; on l'a appelé, à juste titre, le *squellette mou* de l'économie. En outre, il joue un rôle mécanique important: en comblant les interstices, situés entre les organes, sous forme de tissu conjonctif lâche (tissu celluleux) ou de tissu séreux, il permet le glissement des parties anatomiqnes les unes sur les autres; sous forme de tendons d'aponévroses, etc., il pourvoit à toute une série de rôles mécaniques. Il est toujours en rapport intime avec les systèmes lymphatique et sanguin.

Dans beaucoup de régions, le tissu lâche fait place à des séreuses : ainsi, par exemple, le tissu conjonctif sous-cutané de l'homme est représenté, chez la grenouille, par des sacs lymphatiques; chez les religieuses, il apparaît aux genoux des *bourses séreuses professionnelles,* tandis que dans cette région, nous les laïcs, nous avons du tissu celluleux ordinaire.

Pour la plupart des organes, décrire l'agencement du tissu connectif, c'est indiquer la marche des vaisseaux qui s'y distribuent.

En pathologie, le tissu conjonctif joue un rôle prépondérant. Il n'y a, pour ainsi dire, pas de lésion inflammatoire à laquelle il ne prenne une part plus ou moins considérable; il donne lieu, en outre, à un groupe spécial, très important, de tumeurs (sarcomes, myxomes, fibromes, lipomes, etc.).

Il présente une grande parenté avec les tissus cartilagineux et osseux; si bien que, depuis Reichert, on réunit ces trois forma-

tions, pour constituer le *groupe des tissus de la substance conjonctive.* On saisit, en effet, soit dans la série animale, soit dans période de développement, soit à l'état adulte, soit dans les diverses manifestations pathologiques, de nombreux intermédiaires entre ces trois tissus.

Au point de vue chimique, le tissu connectif engendre par coction, avec ou sans le concours des acides, de la *colle* ou *glutine ;* de là, la dénomination de *substance collagène* ou *glutigène* qu'on lui donne quelquefois.

Au point de vue du développement et de la régénération, ce tissu débute toujours d'une façon très simple et sous forme d'agglomérations de cellules embryonnaires, qui s'entourent bientôt d'une substance fondamentale. C'est la différentiation et l'agencement intérieur de cette dernière substance qui donnent la caractéristique des nombreuses variétés, sous lesquelles il peut se présenter.

Les tissus conjonctifs se *régénèrent* avec une grande facilité.

On peut, au point de vue microscopique retrouver constamment, dans tout tissu conjonctif, les *parties constitutives* suivantes :

a. ÉLÉMENTS CELLULAIRES : proprement dits, *cellules connectives, endothéliales* adipeuses, etc., et accessoires, *leucocytes,* etc.

b. SUBSTANCE FONDAMENTALE, plus ou moins différentiée, suivant les cas.

c. PARTIES ACCESSOIRES : *vaisseaux sanguins* et *lymphatiques,* et *nerfs.*

Les CELLULES varient beaucoup de forme, avec la disposition des substances intercellulaires ; car celles-ci leur font subir des pressions variables, qui contribuent à les orienter, dans chaque cas, d'une façon déterminée. On doit considérer les cellules endothéliales, adipeuses, etc., comme étant des modifications, toujours ultérieures, des cellules connectives proprement dites. Elles sont généralement arrondies, aplaties, fusiformes ou étoilées.

La SUBSTANCE FONDAMENTALE, dans les tissus connectifs mal différentiés, est homogène et de nature *muqueuse.*

Dans les tissus, arrivés à complet développement, la substance fondamentale se différentie en :

1° *faisceaux* ou *fibres connectives*, constitués par l'agglomération de *fibrilles* très fines et généralement entourés d'une gaine, renforcée par des anneaux et des fibres spirales (de Henle) ; et en :

2° *fibres élastiques* formant des *réseaux*, plus ou moins délicats.

C'est l'orientation dans l'espace, des fibres et des fibrilles, qui détermine la production des différentes variétés de tissu connectif adulte. Il n'est pas nécessaire que la différentiation de la substance fondamentale aille toujours aussi loin ; elle peut s'arrêter en chemin.

La marche des VAISSEAUX PROPRES du tissu connectif est réglée par l'agencement intime de la substance fondamentale. Il faut se souvenir que beaucoup de vaisseaux et de nerfs ne font que traverser le tissu conjonctif d'une région, pour se rendre à d'autres endroits de l'économie. Cependant, il est assuré que quelques *nerfs* se terminent dans le tissu lui-même (dans les tendons par exemple) ; ces terminaisons sont, du reste, encore mal étudiées.

CLASSIFICATION. Avant de procéder à l'étude pratique des formes du tissu conjonctif, il est indispensable de les passer en revue méthodiquement. Voici comment nous proposons de les classer :

I. T. EMBRYONNAIRE

II. T. FŒTAL ou *myxomateux*.

III. T. ADULTES
- lâche, adipeux — (T. celluleux de Bichat.)
- membraneux, rétiforme, engainant — (T. séreux.)
- tendineux ou ligamenteux, aponévrotique — (T. tendineux.)
- lamelleux
- réticulé
- élastique

Résumons la caractéristique de chacune de ces formes de tissu conjonctif :

a. Tissu embryonnaire, constitué par des cellules non différentiées, généralement arrondies, parfois légèrement allongées, fusiformes ou même étoilées. Pas encore de substance fondamentale. Ce tissu, qui persiste souvent chez les organismes inférieurs, est purement transitoire dans l'économie des êtres supérieurs.

b. Tissu myxomateux ou *muqueux*. Cellules étoilées, parfois anastomosées. Substance fondamentale muqueuse, quelquefois avec faisceaux connectifs rudimentaires. Cette forme *fœtale* peut persister, très exceptionnellement, à l'état normal, chez l'homme et les animaux adultes (pulpe dentaire, corps vitré).

c. Tissu connectif lâche (*sans forme, tissu celluleux* de Bichat). Cellules connectives, aplaties, à bords arrondis ou irréguliers, appliquées parfois contre les faisceaux connectifs. Faisceaux conjonctifs et réseaux élastiques fins entrecroisés, se dirigeant *dans tous les sens* de l'espace et ménageant entre eux des lacunes lymphatiques interstitielles (*cellules* de Bichat), qui semblent communiquer directement avec les vaisseaux lymphatiques proprement dits. Ce tissu, très répandu dans l'économie, est, le plus souvent, combiné avec le tissu adipeux.

d. Tissu adipeux. Comme le tissu lâche ; mais avec production de *loges*, renfermant des groupes de cellules spéciales : les *vésicules adipeuses*. Cette forme, très commune, se combine souvent, dans une série de transitions insensibles, avec les autres variétés de tissu connectif.

e. Tissu membraneux (séreux). Formé d'une nappe de tissu conjonctif lâche (substratum), tapissée à la surface par une couche continue de cellules endothéliales, de forme aplatie (revêtement). C'est le type du tissu distribué dans *deux directions* de l'espace.

f. Tissu rétiforme (grand épiploon). Comme le précédent ; mais parsemé de solutions de continuité et de *trous* nombreux, de dimensions variables.

g. Tissu engainant. Organisé en lames d'une substance fondamentale, mal différentiée, disposées par plans superposés et

tapissées, sur leurs deux faces, par un *revêtement endothélial* continu. Constitue les enveloppes des nerfs et même de certains vaisseaux.

h. Tissu tendineux. Formé de *faisceaux tendineux primitifs,* composés de faisceaux connectifs parallèles, entourés d'une enveloppe de tissu lâche ou d'une vraie gaine endothéliale. Les cellules connectives, alignées régulièrement, ont des *crètes d'empreinte* particulières, très curieuses. C'est le type de tissu connectif organisé dans *une seule direction* de l'espace.

i. Tissu aponévrotique. Comme le précédent. Avec cette différence que les faisceaux connectifs, et même, le plus souvent, les faisceaux tendineux primitifs, *s'entre-croisent* dans *un seul plan* et se coupent généralement *à angle droit* (lois de la statique).

k. Tissu lamelleux. Constitué par une série de plans connectifs superposés, qui se laissent décomposer en faisceaux connectifs, entre-croisés dans un seul plan, comme dans la cornée, par exemple.

l. Tissu réticulé (adénoïde). Renfermant un *réseau* de substance fondamentale, parfois mal déférentiée à mailles dirigées dans tous les sens de l'espace, riches en cellules connectives et tapissées par un endothélium, pour les grosses travées. Ces mailles renferment beaucoup de *cellules embryonnaires :* globules blancs et globulins.

m. Tissu élastique. Caractérisé par la prédominence de la *substance élastique ;* on le retrouve surtout dans certains ligaments, comme les ligaments jaunes.

2° Etude pratique du tissu connectif.

Réactions générales. Elles sont toujours identiques pour toutes les variétés ; le jeune histologiste devra les posséder parfaitement.

Nous allons les résumer une fois pour toutes :

ALCOOL, ACIDES OSMIQUE, PICRIQUE, etc. Ont tous une action *fixante* générale plus ou moins parfaite.

Nitrate d'argent. Dilué, il fixe également bien. Mais, en outre, concentré, il *imprègne* les substances unissantes d'une manière très remarquable.

Picro-carmin. Par l'acide picrique qu'il contient, il est aussi un réactif *fixant* précieux, surtout pour le tissu connectif frais. Par le carmin qu'il renferme, il *colore* en rose les faisceaux conjonctifs, les noyaux des cellules, connectives ou autres, et la matière muqueuse. Les protoplasmes, et, parfois aussi les fibrilles élastiques, prennent une teinte jaunâtre, due à l'acide picrique. Cette dernière coloration n'est pas toujours très nette; elle s'efface, d'ailleurs, facilement par le relavage.

Acides (*acétique, formique*, etc.). Ont la propriété singulière de faire *gonfler* énormément les fibrilles connectives. Lorsque celles-ci sont *déjà colorées*, elles *pâlissent et se décolorent, en même temps qu'elles gonflent;* les anneaux et les spirales de Henle deviennent, au contraire, plus *apparents* et prennent une teinte *rouge foncé*. Quant aux fibrilles élastiques, elles sont *inattaquables* par les acides. L'intervention de ceux-ci rend leurs réseaux beaucoup plus *visibles;* et, alors, grâce à leur réfringence marquée, ils semblent comme *posés au-dessus* des autres tissus, devenus plus transparents.

Alcalis. Ont une action *dissolvante* marquée; les substances élastiques *résistent* en dernier lieu. Si l'on a fait intervenir un acide, et que la réaction n'ait pas été trop énergique, les parties reviennent à peu près à leur état primitif.

Iode. Colore tout *en jaune*, mais plus spécialement la matière élastique.

Ebullition. Transforme les fibrilles connectives en *glutine*, surtout à température élevée (marmite de Papin) et avec le concours des acides.

a. — **Tissu connectif embryonnaire.**

Il suffira de faire une ou deux *coupes* d'un jeune embryon; de les monter, colorées ou non, dans de la glycérine, acide ou non, ou bien dans du baume; et de les étudier au microscope. — On verra

que le tissu conjonctif embryonnaire est composé de *cellules arrondies,* ou *légèrement fusiformes,* et accolées les unes aux autres, sans interposition d'*aucune substance fondamentale* apparente. Faisons remarquer que l'image fournie par les noyaux, très visibles, distrait souvent de l'étude des contours cellulaires ; il faudra donc s'attacher à rechercher ceux-ci avec d'autant plus de soin.

Les mêmes préparations serviront à l'étude des autres tissus embryonnaires ; elles aideront, en outre, à comprendre, d'une façon générale, la spécialisation des tissus.

Par la *macération* dans l'alcool au tiers ou dans la solution de Müller, on pourra après légère dissociation, aussi obtenir les éléments fixés dans leur forme et séparés les uns des autres.

L'examen du tissu embryonnaire frais, par écrasement et dissociation de ce tissu, dans un peu de solution salée titrée, et suivie de l'application d'un peu d'acide acétique, est des plus instructifs. Nous ne saurions trop le recommander.

b. — **Tissu myxomateux.**

Bien représenté dans le cordon placentaire (gelée de Wharton) et dans le tissu sous-cutané du fœtus, le tissu myxomateux persiste, chez l'homme adulte, avons-nous dit, dans la pulpe dentaire et, jusqu'à un certain point, dans le corps vitré.

Méthodes d'étude. Pour commencer, on prendra ce tissu, tout simplement à l'état frais, dans le cordon ombilical, et, de préférence, chez un fœtus, plutôt jeune et non encore arrivé à terme.

En *dissociant* de petits fragments de tissu dans de l'eau salée, on verra très nettement les éléments cellulaires, plongés dans la substance fondamentale muqueuse ; par l'addition d'acide acétique, cette dernière se troublera et deviendra granuleuse, *même dans un excès du réactif.* — Après l'intervention de l'acide acétique, l'addition d'un peu de glycérine et la confection d'un cadre, permettront de faire une préparation à conserver. Cette dernière réaction par l'acide acétique, qu'il faudra noter, est très souvent

employée par les pathologistes, pour rechercher la présence de la substance muqueuse et des mucus en général.

On obtiendra également de bons résultats, surtout si l'on veut faire des préparations à conserver, en pratiquant préalablement, au moyen de la seringue de Pravaz, une *injection interstitielle* de sérum iodé ou d'acide osmique léger ; ainsi les éléments apparaîtront plus nets. On apercevra alors : les cellules arrondies ou étoilées, avec des prolongements ramifiés et anastomosés ; les faisceaux connectifs très ténus et en voie de développement.

Pour faire des *préparations définitives*, on dissociera et l'on montera, dans de la glycérine picro-carminée, des fragments de tissu, pris dans les portions injectées avec les réactifs ci-dessus, ou simplement avec du picro-carmin concentré, qui agit, à la fois, comme un fixant et un colorant.

c. — **Tissu conjonctif lâche.**

Très répandu partout, il est surtout bien développé sous la peau (tissu celluleux, sans forme, etc.).

MÉTHODE D'EXAMEN. Son étude, très importante, devra être poursuivie, avec beaucoup de soin et d'exactitude, au moyen d'un grand nombre de préparations et de réactions différentes.

a. La méthode la plus simple consiste à *exciser* par sa face profonde, sur un morceau de peau, détaché par dissection, d'un animal, un fragment de tissu celluleux sous-cutané, avec des ciseaux fins, posés bien de plat, en même temps qu'on tend et qu'on fait bomber le tissu avec la pulpe du doigt. La peau du pli de l'aine et de l'oreille (chien, rat, lapin, etc.) sont très appropriées. Ensuite, on étale son morceau sur un porte-objet avec les aiguilles à dissociation, sans ajouter aucun réactif ; puis, profitant de l'adhérence naturelle sur le verre, on le tend rapidement dans tous les sens, par le procédé de la *demi-dessiccation*. Dès que l'opération sera terminée, on s'empressera de mettre une goutte d'eau salée et de couvrir, sans tarder, avant que les parties aient

eu le temps de revenir sur elles-mêmes, en vertu de leur propre élasticité.

Au premier coup d'œil, on verra les *faisceaux connectifs* dirigés indifféremment dans tous les sens, ainsi que les *réseaux élastiques* et les *fibrilles* enroulées sur elles-mêmes. Les *éléments cellulaires*, par contre, seront difficiles à saisir. Par-ci par-là, il y aura un bout de *nerf* ou de *vaisseau sanguin* et des *cellules adipeuses*, reconnaissables à leurs contours arrondis, tous de même dimension et à leur aspect transparent, caractéristique ; ces dernières seront d'ailleurs étudiées en détail plus loin (voir tissu adipeux, p. 201).

b. Ensuite, sur des préparations, faites comme ci-dessus, on fera intervenir méthodiquement, les uns après les autres, dans l'ordre voulu et sous ses propres yeux, les réactifs que nous avons énumérés plus haut.

Cette étude sera des plus instructives ; surtout celle au moyen de l'*acide acétique* et du *picro-carmin*, isolés ou combinés. Sous l'influence de l'acide, les faisceaux gonflent et se tordent d'une façon curieuse et difficile à décrire, en même temps qu'ils deviennent transparents. Les anneaux et les fibres spirales de Henle, empêchant, par places, le gonflement de s'effectuer ; il en résulte des renflements arrondis et très curieux des faisceaux. Si l'acide est trop concentré, les anneaux ne tardent pas à se rompre brusquement, et les étranglements des faisceaux n'ont pas le temps de se produire. Quant aux noyaux des cellules connectives, ils deviennent très apparents, ainsi que les fibrilles élastiques.

L'acide formique a été souvent recommandé pour faire apparaître les anneaux et les fibres spirales de Henle. Avec l'acide acétique, dilué et appliqué avec soin, on obtient, à notre avis, des résultats tout aussi bons. On peut, parfois, accidentellement, dans des pièces préparées, dans d'autres buts, par l'acide nitrique, voir apparaître admirablement bien les fibres et les anneaux en question.

c. Pour obtenir des *préparations définitives* bonnes et durables du tissu conjonctif lâche, il faudra appliquer une méthode plus parfaite. Au moyen de la seringue de Pravaz (fig. 18, p. 12), on

poussera dans le tissu conjonctif lâche sous-cutané, encore en place sur l'animal, des injections interstitielles de différents liquides : acide osmique dilué, nitrate d'argent et surtout picro-carmin. C'est la méthode de la *boule d'œdème artificiel, de Ranvier*.

Le liquide dilate les mailles du tissu et lui donne rapidement un aspect gélatineux, comme s'il était atteint d'œdème pathologique. On laisse agir ces réactifs le temps voulu, plusieurs heures au moins, parfois même plusieurs jours, si cela est nécessaire ; puis l'on excise des morceaux avec les ciseaux, après avoir toutefois gonflé à nouveau le tissu, par une nouvelle injection ; et l'on fait des préparations dans de la glycérine, ou dans d'autres liquides conservateurs.

d. Pour obtenir de belles images des anneaux de Henle, on met des morceaux de tissu dans de la glycérine légèrement acidifiée ; au bout de 24 heures, la réaction est opérée.

Il est à noter que, pour bien réussir, il faut vite couvrir les fragments excisés, avant qu'ils aient eu le temps de laisser écouler au dehors le liquide de l'injection. Ainsi, les parties se présentent bien séparées les unes des autres.

Voici comment nous procédons souvent :

Nous injectons d'abord soit de l'alcool, soit de l'acide osmique dilué, à 1 à 2 $^0/_{00}$; puis ensuite, au bout d'un jour, de la glycérine, neutre ou acide, suivant les cas ; nous excisons pour faire la préparation. Ou bien, après l'injection d'alcool ou d'acide osmique, nous intercalons une injection de picro concentré, et nous terminons par l'injection de glycérine, neutre ou acide.

Ajoutons que, au moment où l'on pousse l'injection interstitielle, on voit souvent quelques *vaisseaux lymphatiques* de la région s'injecter ; il doit donc y avoir *communication facile,* entre les lacunes du tissu connectif et les vaisseaux lymphatiques.

d. — **Tissu adipeux.**

Il est facile d'en recueillir dans toutes les parties de l'organisme. Son étude demande à être poursuivie, aussi bien dans les endroits où il est rare, que dans ceux où il se présente à l'état compact. On

le retrouvera, du reste, accidentellement et à chaque instant, en étudiant les autres variétés du tissu connectif.

Méthodes d'étude. Ce sont les mêmes, en général, que pour le tissu conjonctif lâche : puisque c'est ce dernier qui sert de trame aux lobules adipeux.

a. En faisant des préparations à l'*eau salée,* on apercevra sans peine l'ordonnance générale du tissu, avec les *mailles* de tissu lâche, dessinant les *lobules adipeux,* souvent divisées en *lobules secondaires.* Les *vésicules adipeuses* se présentent sous forme de corps assez volumineux, tous sensiblement de même grandeur et d'un aspect assez caractéristique, blanchâtre et un peu mat.

Il faudra s'attacher à bien distinguer les cellules adipeuses des gouttes de graisse, qui flottent souvent dans la préparation et qui proviennent de la rupture de quelques cellules adipeuses, déchirées accidentellement par la dissociation. Il arrive quelquefois que les cellules graisseuses renferment des cristaux, en aiguilles, groupés en mâcles, autour d'un ou deux centres ; on admet, généralement, que ce doit être de la *margarine.* Ces cristallisations, chose digne d'être notée, apparaissent constamment *post mortem.*

b. Pour bien voir tous les détails de la cellule adipeuse, il sera indispensable de recourir à des préparations plus compliquées.

On mettra de petits morceaux de tissu adipeux dans un godet, *fixer et colorer* dans du picro-carmin concentré, pendant plusieurs heures. Après relavage prolongé à l'eau pure, et dissociation dans de la glycérine légèrement acidifiée (avec un peu d'acide acétique), on verra apparaître les noyaux ; ceux des cellules adipeuses seront particulièrement apparents. Il sera bon de bien s'habituer à distinguer ces derniers des noyaux du tissu conjonctif environnant ; ceux des vésicules adipeuses, placés toujours périphériquement dans la cellule, déforment, en la refoulant un peu, la gouttelette graisseuse. C'est surtout sur les cellules isolées qu'il sera commode de poursuivre ce genre de recherches.

c. L'action, pendant 24 heures, d'un bain ou, mieux encore, d'une injection interstitielle d'acide osmique, suivie d'un bon relavage

et d'une coloration dans du picro-carmin, fournira des préparations encore plus démonstratives. Si l'on veut faire une coloration lente, on peut monter simplement dans de la glycérine picro-carminée. Par ces réactifs, on colorera les gouttes graisseuses en noir, le noyau en rose et le protoplasma en gris brunâtre. Ce dernier se présentera sous forme d'un contour grisâtre ; il sera facile de se convaincre que les cellules adipeuses n'ont pas toujours une forme arrondie, ainsi qu'on pourrait le supposer, au premier abord et par une observation superficielle. De plus, l'acide osmique aura l'avantage de rendre les autres cellules connectives très nettes ; on pourra les voir, pour le moins, tout aussi bien que dans le tissu lâche ordinaire ; l'on verra, en outre, nettement les agglomérations de globules blancs, toujours nombreuses autour des lobules adipeux.

d. Les mêmes préparations, exécutées avec un tissu adipeux, provenant d'*un animal jeune* ou *rapidement amaigri,* montreront des cellules adipeuses, avec une moins grande quantité de graisse que d'ordinaire, sous forme de gouttelettes *plus petites,* inégales de grandeur et au nombre de *trois ou quatre* par élément.

Cette étude fera comprendre par quel mécanisme la matière graisseuse augmente et s'accumule dans les cellules, en voie de développement et diminue dans les éléments, en voie de régression.

Il va sans dire, qu'il faudra aussi s'enquérir des rapports avec les vaisseaux et les nerfs ; ils deviennent particulièrement apparents, après l'action de l'acide osmique.

e. Enfin, pour terminer cette étude, il sera bon de faire quelques coupes sur des *pièces injectées ;* on se convaincra alors de la *richesse vasculaire* considérable du tissu adipeux ; ainsi que des rapports de contact intime des capillaires sanguines, avec les vésicules graisseuses, rapports qui ont assurément une grande importance, au point de vue de la nutrition générale de l'organisme et des échanges nutritifs, entre ces deux ordres respectifs de formations anatomiques.

e. — **Tissu membraneux.**

Le tissu membraneux forme les *séreuses* et se présente sous deux aspects :

a) appliqué contre la surface des cavités *(séreuses simples)* ;

b) sous forme de deux *séreuses adossées* l'une contre l'autre (*séreuses réfléchies* ou *redoublées* et non *dédoublées*, comme on dit parfois improprement), telles que le mésentère, certaines parties du péricarde, etc.

Cette dernière forme, vu sa grande minceur fréquente, est très favorable à l'étude microscopique ; les préparations qu'elle fournit sont, en quelque sorte, comparables aux coupes microscopiques. Seulement, il ne faut pas oublier que l'on est présence d'une répétition, à double et en sens inverse, des mêmes parties.

Pour arriver à des notions précises sur ce genre de tissus, il sera nécessaire, ici tout particulièrement, de multiplier les méthodes de préparation et d'étude. — Certaines préparations microscopiques démontreront le *substratum connectif;* d'autres feront mieux voir le *revêtement endothélial,* avec ses particularités et ses rapports curieux.

A. — Etude des séreuses simples.

Les revêtements, péritonéal et pleural, pariétaux, se prêtent assez bien à l'observation :

a. On circonscrira avec le scalpel, par quatre incisions, un fragment du péritoine; puis on l'*arrachera,* en le prenant et en le tirant par un des coins, avec la pince. Les morceaux ainsi obtenus pourront être traités par différents réactifs, dans un godet et montés ensuite.

b. Ou bien, ce qui est meilleur, on les étendra sur un porte-objet, en recourant au procédé de la demi-dessiccation ; on pourra, si on le désire, fixer par les bords, le fragment ainsi étalé, au moyen d'un peu de paraffine fondue ; puis on passera immédiatement à

l'examen dans de l'eau salée. Ou bien, l'on traitera par différents réactifs, sous les yeux de l'observateur, et l'on montera en préparation définitive.

c. On pourra encore avec avantage, avant l'excision, procéder à une *fixation en place,* au moyen d'un petit jet d'alcool.

d. L'application du *nitrate d'argent* pourra aussi être tentée sur un animal fraîchement tué ; mais elle donne des résultats moins démonstratifs qu'avec les séreuses réfléchies (voir ci-dessous).

L'étude des séreuses simples est surtout bonne, pour montrer qu'elles constituent vraiment une membrane *indépendante* et douée d'une *vitalité propre.* Sur des *pièces injectées,* ou présentant simplement une forte *congestion vasculaire,* il est facile de saisir, sans autre, la distribution des vaisseaux sanguins.

e. La méthode des coupes sur des morceaux bien fixés, — par l'acide osmique, — par exemple, rendra familier avec les images des cellules endothéliales, vues de profil, du revêtement et avec le tissu conjonctif lâche vascularisé, dessinant le substratum propre. Ici, l'imprégnation à la celloïdine et l'inclusion à la paraffine, seront d'un bon usage (voir ces méthodes, p. 95 et 97).

B. — Etude des séreuses réfléchies.

Ce sont surtout : le mésentère, les méso en général, quelques parties du péricarde, etc. Dans le mésentère, il est bon de rappeler au lecteur, qu'entre les deux feuillets séreux, rampent des vaisseaux, qui ne font que traverser la région pour se rendre à l'intestin ; cette particularité a fait admettre, avec raison, par quelques histologistes l'existence de *trois feuillets.* Disons toutefois, que nous n'avons trouvé ces trois feuillets bien dessinés, que chez les animaux de grosse taille.

a. Comme *première orientation,* il sera bon de porter directement sous le microscope et d'examiner un morceau de mésentère, simplement, dans de l'eau salée ; on se fera ainsi de suite, une bonne idée de l'agencement général des parties. Le traitement

ultérieur de la même préparation par l'acide acétique, fera apparaître avec netteté, les noyaux et les réseaux élastiques. L'addition d'un peu de glycérine, à la pièce ainsi traitée par l'acide, permettra de la conserver en préparation définitive.

b. Le procédé de la *demi-dessiccation,* indiqué plus haut, est très favorable; on ne manquera pas d'y recourir.

c. Pour obtenir de belles *préparations définitives* on s'y prendra autrement. Nous conseillons de tendre, comme sur la peau d'un tambour, sur un verre de montre, sur un godet, ou, mieux encore, sur l'ouverture d'un vase cylindrique, un grand morceau tout frais de tissu. On fera alors intervenir à volonté les réactifs fixants et colorants, en immergeant les parties ainsi tendues. De cette manière, les faisceaux connectifs présenteront une marche bien rectiligne; ce qui est d'un grand avantage pour l'observation. Nos *petits tendeurs pour membranes* (fig. 114 et 115), sont très commodes pour étaler rapidement et pour maintenir ensuite en extension n'importe quelle membrane. Ils permettent l'application, même prolongée, si on le désire, de toutes sortes de réactifs: picro-carmin, acides osmique, nitrique, chromique, etc. Construits en ébonite, ils résistent admirablement à tous ces agents.

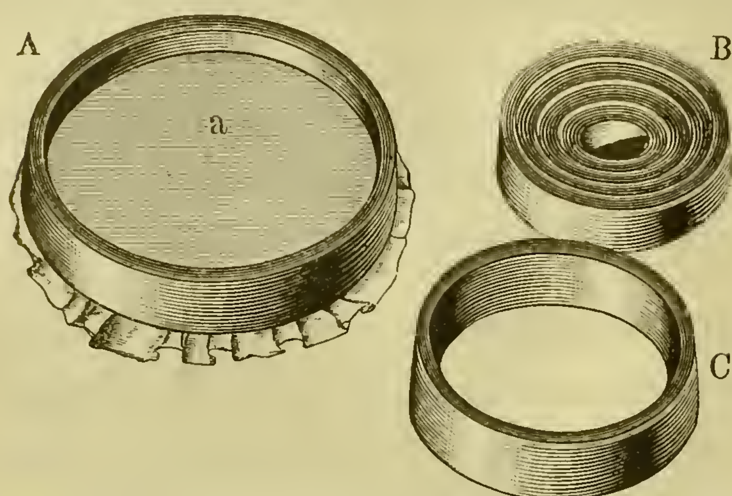


Fig. 114. Anneaux concentriques tendeurs pour membranes (de l'auteur, d'ap. ses dessins).
A Un des anneaux avec la membrane a tendue. La tension s'opère comme dans les tambours de brodeuses.
B Jeu d'anneaux emboîtés les uns dans les autres.
C Un anneau séparé, montrant sa forme légèrement conique.

d. En ce qui concerne l'application du *nitrate d'argent,* voici le procédé que nous recommandons: Il faudra choisir un jour bien clair et se placer à une lumière vive; on aspergera, — en faisant tomber goutte à goutte, avec une pipette de verre, une solution diluée de nitrate d'argent, — un morceau, pris à un animal fraîchement sacrifié et préalablement tendu, comme il a été dit ci-dessus.

Pour obtenir des imprégnations bien nettes, il faut laver délicatement à l'eau distillée les morceaux à imprégner et n'employer que des solutions de nitrate très diluées (2-3 $^{0}/_{00}$) ; la plupart des traités techniques ont le tort, à notre avis, d'indiquer des formules trop concentrées. Quand les parties commencent à *brunir* légèrement, on relave à l'eau distillée, pour éloigner l'excès du réactif. Puis on met à l'alcool, pour parfaire la fixation. On place la pièce sur le rebord extérieur d'une fenêtre, et on laisse la réduction s'opérer sous l'influence de la lumière, en surveillant de temps en temps les progrès de la réaction.

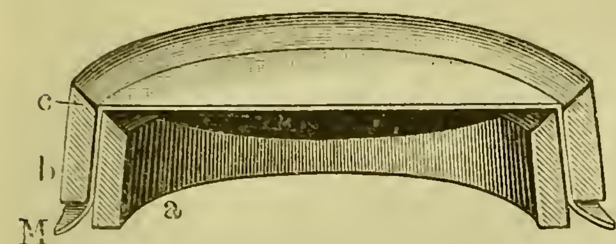


Fig. 115. Deux anneaux tendeurs de la fig. 114, avec la membrane mise en place. Vue en coupe (d'ap. un dessin de l'auteur).
M Membrane,
a Anneau intérieur.
b Anneau extérieur.
c Biseau conique.

Noter la forme générale légèrement conique des anneaux.

Ensuite, le morceau pourra être détaillé en fragments plus petits, que l'on traitera de diverses façons, et qu'on montera à la glycérine neutre ou mieux au baume, après avoir, ou non, fait intervenir des colorations (celle au carmin à l'alun et, surtout, celle au carmin ordinaire réussissent particulièrement bien).

Parfois l'imprégnation va plus profond, et atteint les vaisseaux sanguins et lymphatiques. Lorsque le revêtement séreux endothélial s'est déjà détaché, — ce qui arrive d'ailleurs avec la plus grande facilité, — l'image fournie par le nitrate est celle d'une *imprégnation profonde* du tissu conjonctif, avec images cellulaires dites *négatives ;* nous reviendrons plus loin sur les images importantes, fournies par ce genre de préparation, ainsi que sur les rapports des cavités séreuses avec les vaisseaux lymphatiques (voir plus loin : tissu tendineux, p. 217 et aponévrotique, p. 210).

f. — **Tissu rétiforme.**

Il est représenté sous ses deux formes principales : en un seul plan, dans le grand épiploon ; et, en plans superposés et stratifiés, dans la pie-mère. Son principe d'architecture est tout simplement

celui d'un tissu membraneux, parsemé de nombreux trous. On lui retrouvera donc les mêmes éléments qu'au précédent.

Il faudra l'étudier par les mêmes méthodes (v. séreuses réfléchies, p. 205).

La démonstration complète du revêtement endothélial n'est pas toujours facile à faire. Pour maintenir ce tissu, pendant l'action du réactif, il suffira de tendre légèrement les morceaux frais d'épiploon, au moyen de nos anneaux tendeurs (fig. 114 et 115, p. 206 et 207) ; ou, plus simplement, si l'on veut, de les étaler, en les laissant adhérer par dessiccation sur les bords d'un godet à lavis ordinaire, dans lequel on versera ensuite les réactifs appropriés : picro-carmin, eau, alcool, acide osmique, etc. L'épiploon, en se séchant, restera suffisamment adhérent sur les bords du godet, tandis que la portion tendue sur l'ouverture du récipient fléchira et plongera dans le réactif. L'acide acétique, appliqué, après coloration au picro-carmin, fait parfois apparaître de beaux anneaux et de belles fibres spirales de Henle.

g. — **Tissu engainant.**

Ce tissu est particulièrement bien dessiné dans la gaine des nerfs. On pourra l'étudier avec ou sans le nerf qu'il enveloppe.

Voici les principaux procédés à appliquer :

a. Couper un bout de nerf frais (nerf sciatique, nerf lombaires, etc.) ; fendre délicatement la gaine avec les ciseaux fins ; éloigner les tubes nerveux avec un pinceau ; *dissocier* un peu pour écarter les feuillets constitutifs de la gaine ; faire un *examen frais*, dans l'eau salée, ou bien étudier des préparations à la glycérine neutre ou acide, non sans avoir toutefois fixé et coloré au picro-carmin. — On verra les *feuillets* du tissu et les *noyaux* appartenant aux cellules endothéliales.

b. Par *macération* à l'alcool au tiers, ou à la solution de Müller, on pourra obtenir la desquamation des éléments cellulaires. Les lames de substance fondamentale, ainsi débarrassées, se présenteront comme une substance connective homogène,

mal différenciée, prenant bien la coloration carminée et parsemées de tissu élastique ; ce dernier sous forme de *fibrilles* fines, de *grains*, parfois alignés, et même de *plaques* très curieuses. Ces particularités du tissu élastique sont surtout apparentes sur les nerfs volumineux de l'économie, mais seulement dans les lames les plus centrales; les lames périphériques, moins distinctes, présentent toute une série d'intermédiaires morphologiques insensibles vers le tissu conjonctif lâche ambiant, faisant souvent suite lui-même à du tissu adipeux.

c. Dans les *coupes* de gros nerfs, on voit distinctement les feuillets superposés et anastomosés, qui ménagent entre eux de véritables fentes lymphatiques, tapissées par un revêtement endothélial cellulaire continu, dont les noyaux deviennent encore plus apparents, sous l'influence des réactifs colorants.

Si l'on a eu soin de bien fixer son nerf par l'acide chromique, ou osmique, et qu'on ait fait une imprégnation à la celloïdine, à la gomme ou à l'albumine (voir : *Méthodes d'imprégnation,* page 94). on obtiendra de superbes préparations, qui permettront de constater, autour de chaque faisceau nerveux, la présence d'une gaine à contour circulaire, envoyant dans le tissu nerveux des prolongements, sous forme de cloisons ramifiées et porteuses des vaisseaux sanguins.

d. Par l'imprégnation au *nitrate d'argent,* on complétera ces premières notions.

Les nerfs lombaires de la grenouille se prêtent très bien à ce genre de recherches, de même que les petits filets thoraciques de la souris. Après les avoir dénudés, il suffira, en se plaçant à une bonne lumière, de verser dessus quelques gouttes d'une solution à 3 $^0/_{00}$ de nitrate d'argent, ou de les immerger dans un bain du réactif, en ayant bien soin de les maintenir étendus, jusqu'à ce que le réactif ait agi, c'est-à-dire coagulé et rendu la pièce rigide; après relavage à l'eau distillée, on fera des préparations à la glycérine ; ou bien, après deshydratation, on montera au baume du Canada. Il sera parfois nécessaire d'exposer à la lumière un certain temps, pour assurer la réduction de l'argent au degré voulu.

Les contours des cellules endothéliales apparaîtront alors avec une grande netteté; formant quelquefois des plans superposés continus, et présentant, par places, des ouvertures plus ou moins arrondies.

h. — **Tissu tendineux.**

Constitue les *ligaments* et les *tendons,* en relation soit avec les pièces squelettiques, soit avec le tissu musculaire.

Tout gros tendon est décomposable en *faisceaux tendineux primitifs:* soudés ensemble par du tissu connectif lâche; ou bien, dans quelques cas exceptionnels, isolés et entourés par une gaine endothéliale régulière. A leur périphérie, les gros tendons peuvent, parfois, se continuer avec les tissus environnants, par l'intermédiaire de tissu lâche; mais, le plus souvent, ils sont entourés d'une séreuse distincte, bien constituée et servant à favoriser le glissement.

Moyens d'étude. Pour commencer, on prendra les tendons de la queue de la souris.

Chacun de ces tendons, grêle et allongé, est constitué par un *faisceau tendineux primitif*, qui se prête admirablement à l'observation. Cette première étude terminée, l'on s'adressera à d'autres tendons plus compliqués : ceux des extenseurs des doigts. chez l'homme, le chien, le lapin, etc., par exemple.

Voici comment on procédera :

a. Comme première expérience, après avoir sacrifié une souris ou un rat, on lui coupera la queue, à ras du sacrum.

En pinçant fortement, avec l'ongle, une des dernières vertèbres de l'extrémité caudale, on arrivera sans peine à sectionner tous les tissus et à disloquer une des articulations vertébrales. Les tendons, au nombre de quatre par vertèbre, plus solides que les autres tissus, résisteront à la pression de l'ongle; il suffira d'opérer une légère traction sur la vertèbre, ainsi détachée, pour voir

sortir librement de leur gaine les petits tendons, sous forme de longs fils, minces et nacrés. La même opération pourra être répétée, en se rapprochant toujours plus du tronc caudal, autant de fois qu'il y a encore de vertèbres. Il faudra, toutefois, éviter de confondre les *nerfs propres* de la queue avec les filets tendineux qui leur ressemblent beaucoup, lorsqu'on les observe à l'œil nu.

Chaque filet ainsi obtenu représente un *faisceau tendineux primitif isolé,* suffisamment mince pour permettre l'observation d'un grand nombre de détails.

Après avoir retiré un groupe de ces tendons, on les étale séparément, les uns à côté des autres, dans le sens de la longueur d'un porte-objet (fig. 116), puis on les fixe, de suite, aux deux extrémités, avec une goutte de cire à cacheter ou de paraffine fondues, pour les maintenir en extension ; rapidement et avant qu'ils aient le temps de se dessécher, on dépose sur leur partie moyenne une goutte d'eau salée ; on couvre d'une lamelle et l'on commence l'examen, avec un faible grossissement.

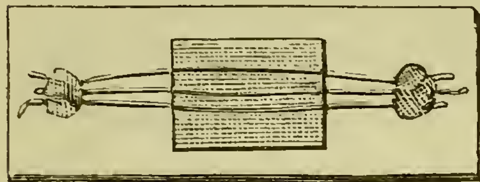


Fig. 116. Tendons de la queue de la souris, étalés en préparation pour l'observation microscopique (d'après un dessin de l'auteur).

Nota. Ce même dispositif est applicable à d'autres objets de formes analogues, tels que nerfs, etc.

Il sera facile de voir que chaque *faisceau tendineux primitif* est composé d'un certain nombre de *faisceaux connectifs,* accolés parallèlement. Quant au *revêtement endothélial,* par l'application de forts grossissements, avec une bonne mise au point et un peu d'attention, on peut l'apercevoir, le long du bord du tendon, sous forme d'un liseré grisâtre, très mince et parsemé de noyaux. La *fibrillation* des faisceaux connectifs est également apparente.

Si, une fois ce premier examen terminé, on ajoute une trace d'acide acétique à la préparation, le tissu conjonctif s'éclaircit incontinent et le tendon devient comme *vitreux;* il est alors très facile d'apercevoir, dans son intérieur, une série de *bâtonnets* alignés régulièrement, qui ont longtemps, et en vain, intrigué les histologistes, et donné lieu aux théories les plus bizarres. Ajoutons que les faisceaux tendineux primitifs sont parfois, quoique rare-

ment, entourés d'une quantité minime de *tissu lâche,* entraîné au moment où on les a retirés.

b. En même temps que l'on faisait la préparation précédente, on aura eu soin d'en confectionner une seconde de la même manière; mais en mettant du picro-carmin concentré, au lieu de chlorure de sodium.

Après avoir fait un cadre à la paraffine, pour prévenir le desséchement, on lui jettera un coup d'œil de temps en temps, afin de poursuivre les progrès de la coloration. Cette observation donnera une bonne idée sur la façon dont ce réactif agit sur les tissus. Les cordelettes tendineuses prendront d'abord une teinte diffuse jaune ; c'est l'action de l'acide picrique. Puis on verra apparaître une teinte rose de plus en plus foncée, qui s'avancera de la périphérie vers le centre et due à l'action du carmin. Si le carmin venait à s'évaporer, malgré le cadre, ou à perdre sa puissance de coloration, il faudrait en ajouter à nouveau et autant de fois que cela sera nécessaire, jusqu'à ce que la pénétration soit complète.

On attendra que le carmin ait pénétré jusqu'au centre. Comme cette pénétration demande souvent plus d'un jour, on peut placer la préparation, posée sens dessus dessous, sur un godet rempli jusqu'aux bords de picro concentré, de façon à ce que le liquide touche la plaque et baigne comme il faut les cordelettes tendineuses. Ensuite, on enlèvera la lamelle et le cadre de paraffine, s'il y en avait un ; on relavera longuement et *à grande eau,* pour éloigner tout excès de matière colorante ; on essuyera proprement la lame de verre ; on mettra une goutte de glycérine acidifiée ; puis on couvrira *provisoirement* d'une lamelle bien propre et l'on attendra 24 heures.

Au bout de ce temps, les faisceaux tendineux auront beaucoup *gonflé;* ils se seront *décolorés,* en même temps que leur gaine aura été rompue.

On apercevra par transparence, dans la masse, les mêmes *dessins en bâtonnets* que dans l'expérience précédente (traitement par l'acide acétique) ; mais, cette fois, colorés en rouge. Ce sont les noyaux des *cellules connectives à crêtes.*

Si la réaction n'était pas suffisante, il faudrait mettre une nouvelle dose d'acide, jusqu'à effet. Pour rendre l'image plus évidente, il suffira d'exercer une pression légère sur le couvre-objet, de manière à écraser les faisceaux gonflés : on s'apercevra alors que les prétendus bâtonnets sont des stries plus colorées, passant sur des noyaux cellulaires; il sera même possible, par places, de voir des stries analogues, mais incolores, sur le protoplasma cellulaire. Ce dernier n'est pas toujours facile à discerner. Les stries, ou *crêtes,* sont des empreintes résultant de la compression exercée, par les faisceaux connectifs, sur les cellules conjonctives fixes du tendon.

Dans quelques cas, la gaine n'est pas partout également rompue, à la suite du gonflement général et très considérable des faisceaux connectifs. Il en résulte alors des images très curieuses : il se forme des *étranglements,* ou *anneaux circulaires,* ou bien des *tractus spiraloïdes,* plus ou moins larges et sur lesquels on voit nettement les noyaux endothéliaux, rendus évidents par le carmin.

L'étude, à de forts grossissements, démontre le *tissu élastique,* sous forme de réseaux très fins, marchant dans l'intérieur même du faisceau tendineux, entre les faisceaux connectifs.

Il est inutile de répéter que, si la réaction ne s'était pas bien opérée, il faudrait remettre de l'acide et attendre encore quelques heures, et même quelques jours, s'il le faut.

Pour obtenir de bonnes préparations *définitives,* dans les deux expériences ci-dessus, il suffira, une fois la compression exercée, de bien essuyer la lamelle, de toiletter au mieux la préparation, en éloignant l'excès de glycérine ; de faire un cadre au bitume par-dessus le tout ; puis, une fois celui-ci consolidé, d'éloigner ensuite les bouts de tendons qui dépassent et d'achever de luter. Comme les tendons étaient maintenus constamment dans l'extension, ils resteront dans cet état, une fois pris dans leur cadre par les deux extrémités. Cette condition est *indispensable* pour une bonne réussite. Il est prudent de remplacer au dernier moment la glycérine acidifiée par de la glycérine neutre, pour arrêter la réaction ; autrement, il arrive, le plus souvent, que ce tendon

continue à gonfler, après que le cadre a été tracé et que le lut est alors plus ou moins définitivement endommagé.

c. L'expérimentateur passera ensuite à l'étude des *tendons fixés* par l'alcool fort, ou bien par l'acide chromique ou osmique, très dilués. Pendant l'action de ces réactifs, il sera nécessaire de maintenir dans l'extension les filets tendineux fraîchement extraits de la queue; on obtient ce résultat soit en les liant, sur un morceau de verre ou de bois, soit en les tendant, au moyen d'un petit poids en verre, fixé à leur extrémité, et en les laissant pendre librement dans le réactif fixant, placé dans une éprouvette étroite.

Pour la fixation à l'alcool, il suffit de tirer directement les tendons de la queue, dans le liquide, versé au fond d'une assiette ou de tout autre vase plat; le durcissement est presque instantané.

Ensuite, on détaillera les morceaux devenus rigides, pour en faire des préparations durables variées.

Pour acquérir une bonne idée générale des fibrilles connectives, nous proposons le procédé suivant : on écrasera dans de l'eau pure, avec une aiguille à dissocier ou le dos d'un scalpel, l'extrémité d'un tendon de la queue de la souris, fixé par l'alcool ou l'acide osmique et tenu fixe, par l'autre extrémité, au moyen de la pince. On obtiendra de la sorte un pinceau élégant de fibrilles, bien séparées les unes des autres, qu'on observera le plus commodément dans de l'eau, milieu qui les rend très visibles; et l'on pourra conserver ensuite ces pinceaux, dans de la glycérine neutre ou, mieux encore, dans de la glycéro-colle.

Les fibrilles deviendront encore plus visibles, après coloration au carmin et immersion dans l'eau ordinaire; nous ne saurions trop conseiller ce moyen d'étude.

Si l'on veut obtenir une préparation vraiment élégante, la manière de poser la lamelle n'est pas indifférente; il faut placer cette dernière obliquement, de sorte que le courant provoqué ne chasse pas les fibrilles les unes contre les autres, en les enchevêtrant; mais qu'il les entraîne et les étale toutes, au contraire, dans le même sens.

On verra qu'il faut appliquer de très forts grossissements

(700-800 diamètres), pour les voir avec un *double contour:* elles sont donc très fines.

Si, à des pièces ainsi préparées, et que l'on sacrifie à cet effet, l'on ajoute de l'acide, les fibrilles gonflent et s'éclaircissent; ce sont donc bien elles qui confèrent aux faisceaux connectifs leurs propriétés principales, vis-à-vis des réactifs (v. p. 96 et suiv.).

Quant aux *cellules à crètes,* il est possible de les voir entièrement isolées, en dissociant des tendons, préalablement fixés et colorés. Elles ont alors l'aspect de *lames* fines, pourvues d'un noyau et elles montrent bien les *stries* caractéristiques, nucléaires et protoplasmiques. Il en reste souvent quelques-unes dans le pinceau de fibrilles, produit comme il vient d'être dit plus haut. Elles sont le plus visibles dans un milieu aqueux.

d. Par l'application méthodique du *nitrate d'argent* dilué, on arrivera à des résultats très instructifs.

Les tendons, qu'on vient de retirer, seront rapidement plongés et tenus tendus, avec deux pinces, au fond d'un large godet, renfermant de la solution de nitrate à 2 ou 3 pour mille; ou, mieux encore, retirés tout droit, dans le bain de réactif. L'immersion ne durera que quelques instants; car elle a très rapidement une *action fixante.* Le bain de nitrate d'argent prend très vite un aspect laiteux, qui témoigne de l'intensité de la réaction. Il faudra le changer si cela est nécessaire. Après relavage à l'eau distillée, les tendons, devenus rigides, seront montés, sans autre, à la glycérine; ou bien deshydratés à l'alcool absolu, passés à l'essence pour les éclaircir, et mis au baume.

Si l'on a eu soin de procéder à une *lumière vive,* on aura de très belles images des revêtements endothéliaux de la gaine. Cependant, et c'est là un point très intéressant et digne de remarque: à des endroits, la gaine sera tombée et l'on aura une *imprégnation profonde,* démontrant les *images négatives* (en clair sur champ foncé) des cellules à crêtes, que l'on aura l'avantage de pouvoir observer ainsi, encore en place. Elles ont volontiers, ici, — et, d'ailleurs, comme la plupart des autres cellules connectives, — des formes étoilées et dentelées. C'est le meilleur moyen, pour voir le contour extrême de ces curieux éléments.

e. On pourra compléter ensuite ces investigations, au moyen de *coupes,* pratiquées dans des bouts de faisceaux tendineux primitifs, bien fixés et enrobés dans l'albumine ou dans la celloïdine. Pour avoir un plus grand nombre d'images à la fois, on enrobera plusieurs faisceaux, ensemble et côte à côte, dans le même morceau à couper. Si l'on a soin de faire des colorations préalables, on verra les noyaux des *cellules à crêtes,* ainsi que les *endothéliums* et les *faisceaux connectifs,* en sections transversales. Les images fournies par les cellules propres du tendon sont très intéressantes et instructives ; elles affectent un aspect caractéristique, étoilé et anguleux.

f. Une fois l'étude des *tendons simples* ou *élémentaires* achevée, le jeune histologiste devra passer à celle des *gros tendons,* dont la structure est plus complexe : les tendons des doigts ; le tendon d'Achille de la grenouille et de l'homme, par exemple, pris chez un organisme, injecté ou non.

Ici, la *méthode des coupes* sera parfaitement suffisante. On prendra des pièces bien fixées, imprégnées ou non, à l'albumine ou à la celloïdine.

On verra de suite que ces tendons résultent de l'accolement et de l'union, au moyen de tissu conjonctif lâche, d'un nombre variable de faisceaux tendineux primitifs. Ces derniers ont également des cellules à crêtes, comme dans les tendons élémentaires, dont ils sont les équivalents morphologiques. Ils sont souvent incomplètement cloisonnés dans leur intérieur, par des prolongements de la gaine tendineuse primitive.

Dans les tendons les plus volumineux, les faisceaux tendineux *primitifs* se groupent, pour constituer des *faisceaux secondaires ;* cette disposition a la plus grande analogie avec ce que nous verrons, plus loin, pour le périmysium de certains muscles, ou pour le périnèvre de beaucoup de nerfs.

Le tissu conjonctif des gros tendons, souvent riche en fibres élastiques, est porteur d'un certain nombre de *vaisseaux* qui servent à la nutrition, ainsi qu'on peut s'en convaincre dans les coupes de pièces *injectées*. Les petits tendons, par contre, ont rarement des vaisseaux propres ; ils tirent leur nutrition des environs.

Les tendons volumineux, qui glissent dans une *synoviale,* ont une séreuse enveloppante générale, tapissée par un endothélium et qui leur sert, en même temps, de gaine générale.

g. Les anciens histologistes faisaient des coupes de tendons *desséchés* à l'air libre, en guise de fixation ; ce procédé n'est pas aussi mauvais qu'on pourrait le supposer, au premier abord. Il donne des préparations très satisfaisantes. Il faut ensuite ramollir les coupes et les traiter par les réactifs appropriés.

i. — **Tissus aponévrotiques.**

Il constituent tantôt des lames de tissu mince et mal différencié, tantòt de vrais *tendons plats.*

On peut, d'ailleurs, saisir tous les intermédiaires, entre la simple condensation de tissu conjonctif, et les lames les plus solides. Certaines aponévroses, comme celle de la cuisse chez l'homme, sont en contact direct avec le tissu connectif lâche ambiant; d'autres, comme le centre phrénique, vrai tendon central du muscle, confinent directement à des séreuses.

Dans son principe, le tissu aponévrotique doit être considéré comme un *dérivé* immédiat du tissu tendineux. Son architecture dépend directement, dans chaque région anatomique, des efforts mécaniques qu'il subit.

Etude pratique. Il faudra choisir un ou deux *types* bien caractérisés :

a. Comme *type simple, d'instance inférieure,* l'aponévrose de la cuisse de la grenouille est très bonne.

On fixera celle-ci, sur place, par un petit jet d'alcool ; ou bien, après l'avoir enlevée, en la circonscrivant, par une incision quadrangulaire, on lui fera subir l'influence de réactifs appropriés (picro-carmin, etc.) ; on en fera une préparation en l'étalant, par le procédé de la demi-dessiccation ou autrement. Il n'y a, du reste, qu'à s'inspirer des méthodes indiquées précédemment pour le tissu tendineux (v. p. 210).

On se convaincra ainsi qu'une semblable petite aponévrose est formée de deux plans de faisceaux connectifs, se coupant à angle droit.

Par le picro et l'acide acétique, on obtiendra des images, qui sont le pendant de celles fournies par les *cellules à crêtes* du tendon. Seulement les crêtes d'empreinte s'entre-croisent volontiers *à angle droit ;* il en résulte des images bizarres en V, en T, en L, etc., dessinant vaguement des lettres de l'alphabet.

b. Ensuite, on passera aux *grosses aponévroses, d'instance majeure.*

Un très bon objet d'étude, c'est le *centre phrénique,* non seulement pour comprendre l'agencement du tissu aponévrotique, mais aussi pour se rendre un compte exact des rapports des séreuses avec le système lymphatique.

Le centre phrénique d'un animal (chien, lapin, cobaye, fraîchement sacrifié), préalablement tendu sur un de nos anneaux (fig. 114 et 115) ou bien, sur l'ouverture d'un godet, sera traité par de l'alcool, puis par les réactifs colorants appropriés ; une fois *fixé, coloré* ou *non coloré*, on le détaillera par morceaux carrés, pour en faire des *préparations définitives* variées.

Sur une autre pièce, également tendue, on fera une imprégnation au *nitrate d'argent,* de préférence sur la face péritonéale, après avoir, toutefois, eu soin de frotter une partie de la surface avec le doigt, de façon à enlever une portion du revêtement endothélial.

Les résultats ainsi obtenus seront différents : dans la portion intacte et non frottée, il y aura une *imprégnation superficielle* (image positive) ; dans les parties atteintes par la friction, l'imprégnation sera *profonde* (image négative). On montera à la glycérine bien neutre, ou au baume. Ce dernier milieu nous paraît le plus favorable, car il permet mieux de fouiller du regard toute l'épaisseur de la préparation.

Sur ces différentes pièces, il sera facile de voir que le centre phrénique est constitué par une couche squelettique, formée de deux plans de faisceaux tendineux primitifs, superposés, se coupant *à angle droit* et ayant absolument la même structure que les

faisceaux primitifs des tendons. Cette formation anatomique est doublée par une séreuse, sur chacune de ses deux faces, abdominale et pleuro-péricardique. On peut, du reste, considérer cette formation du diaphragme comme un vrai *tendon musculaire central*. Le dessin quadrillé très régulier, produit par les faisceaux tendineux, ménage des espaces linéaires, comblés par un peu de tissu conjonctif lâche unissant, et porteurs des vaisseaux sanguins et lymphatiques. Ces derniers deviennent quelquefois très apparents dans les pièces imprégnées au nitrate ; on voit alors leurs endothèles caractéristiques. Les deux faces séreuses du centre phrénique, du côté péritonéal et du côté pleuro-péricardique, sont tapissées par un revêtement endothélial, formé de cellules polygonales plus ou moins régulières.

PUITS LYMPHATIQUES DU CENTRE PHRÉNIQUE. Les préparations au nitrate démontreront l'existence *des puits lymphatiques de Ranvier*, qui constituent des communications directes, sous forme d'ouvertures plus ou moins béantes, entre la cavité péritonéale et les vaisseaux lymphatiques, situés dans l'épaisseur du centre phrénique. Ces ouvertures, assez grandes, sont tantôt largement *ouvertes*, tantôt et le plus souvent, *obstruées* par des cellules lymphatiques.

L'image fournie est sensiblement différente dans les deux cas. Quand les ouvertures sont libres, on peut saisir la *continuité* parfaite, entre le revêtement endothélial, à cellules plutôt de forme polygonale, de la séreuse péritonéale, et le revêtement, à cellules déchiquetées et en jeu de patience, des vaisseaux lymphatiques.

Les ouvertures siègent, le plus souvent, immédiatement au-dessus des intervalles, ménagés par l'entrecroisement des faisceaux tendineux primitifs. Elles sont souvent dirigées *obliquement;* parfois au contraire, elles plongent *verticalement,* depuis la surface, et s'alignent, en rangées relativement régulières, le long d'un même vaisseau lymphatique. Leur nombre est *plus grand* qu'on ne le supposerait au premier coup d'œil.

Les puits lymphatiques ont assurément une importance considérable, au point de vue de la circulation de la lymphe, dans la séreuse péritonéale.

Chez les animaux qui n'ont pas de diaphragme, tels que les batraciens, les puits sont remplacés par des dispositifs analogues, placés dans d'autres régions, notamment dans le voisinage des gaines périvasculaires lymphatiques mésentériques.

Les *cavités séreuses* ont été souvent considérées comme un agrandissement des espaces et des interstices naturels du tissu connectif lâche. Dans cette idée, les cellules endothéliales ne seraient autre chose que des cellules connectives, devenues sédentaires et légèrement modifiées; au lieu de former, à la surface des faisceaux connectifs, un revêtement plus ou moins discontinu, ces éléments se seraient *régularisés,* pour constituer une *couche continue.*

Dans les cas normaux, comme dans beaucoup de cas pathologiques, on peut voir souvent le tissu conjonctif lâche faire place à une séreuse bien constituée (espace rétro-péritonéal de la grenouille; bourses séreuses accidentelles, professionnelles, etc.) et vice-versa.

k. — **Tissu lamelleux.**

Ce tissu a un représentant bien caractérisé dans la cornée.

Il est constitué par une série de *plans connectifs régulièrement superposés,* et entre lesquels sont logés des éléments *cellulaires fixes,* aussi bien que les *cellules migratoires.*

En faisant des *coupes transversales* dans la cornée bien durcie des gros animaux, on verra cette disposition avec netteté, surtout après coloration.

L'imprégnation par le *nitrate d'argent,* des mêmes organes, donne des résultats très intéressants; par ce procédé, devenu classique, on obtient des *images négatives* très belles des éléments cellulaires, images qu'on peut rendre *positives,* par un traitement ultérieur à l'acide nitrique dilué.

L'*injection interstitielle* d'acide osmique réussit également bien.

l. — **Tissu réticulé.**

Ce tissu, dont nous devons surtout la connaissance à trois savants suisses (Kölliker, His et Frey) se retrouve dans toutes les *formations lymphoïdes*. On l'appelle aussi *adénoïde*, *cytogène*. Il ne doit pas être confondu avec le tissu rétiforme, que nous avons déjà vu et qui est une variété du tissu séreux.

Les *ganglions lymphatiques* constituent le meilleur objet pour l'étude du tissu lymphoïde.

Il faudra procéder de différentes manières:

a. Le *produit de raclage* frais fera voir les cellules lymphoïdes, si nombreuses, dans ce tissu. Elles sont d'ailleurs en tous points semblables à celles de la lymphe.

b. Des *coupes* de ganglions lymphatiques, soigneusement durcis, colorées et montées en préparations définitives, démontreront l'*agglomération serrée* de ces mêmes éléments lymphoïdes.

c. Le procédé ci-dessus ne permet pas de saisir nettement les détails intimes du réticule de support.

Pour cela, il faut recourir à la méthode ingénieuse, dite *du pinceau,* inventée par notre maître, M. His:

A cet effet, les coupes minces de ganglions bien fixés seront placées sur un porte-objet, dans une goutte d'eau pure; avec un pinceau, à poils doux et pas trop longs, tenu bien verticalement, on les picotera légèrement, soigneusement et avec une grande patience, de manière à chasser lentement les éléments cellulaires, sans détruire toutefois le réseau de support.

Il ne restera à la fin, lorsqu'on réussit bien, que le *réticule fondamental,* sous forme de mailles délicates et constituées par une substance plus ou moins bien différentiée, qui fait voir tantôt des faisceaux connectifs, assez nettement dessinés, tantôt des masses homogènes compactes, transparentes et comme vitreuses. Les mailles du réticule prennent leur point d'appui : d'une part,

sur des *travées* plus volumineuses de tissu conjonctif ordinaire ; et, d'autre part, sur la tunique externe des *vaisseaux sanguins*, généralement très nombreux dans les tissus adénoïdes. Sur les points d'intersection des mailles, se voient, surtout après coloration, des noyaux qui appartiennent aux cellules connectives fixes, propres. Les grosses travées sont parfois tapissées par un *revêtement endothélial* continu, assez net et dont on saisira également les noyaux, dans les préparations colorées.

d. La méthode des *injections interstitielles* rend aussi, dans ce cas, de grands services.

On prendra, tour à tour, comme liquides à injecter : de l'alcool au tiers, du picro-carmin, du nitrate d'argent, de l'acide osmique, etc. Par ces divers réactifs, appliqués avec méthode, les éléments seront écartés, isolés les uns des autres et rendus plus visibles que sous leur forme primitive.

L'*alcool au tiers* favorise beaucoup le traitement au pinceau. Le réactif permet de détacher les cellules connectives du réticule, sur lequel elles sont appliquées.

Le *picro-carmin* colore et fixe assez bien les éléments cellulaires et le réticule ; sous son influence, les tuniques des vaisseaux sanguins deviennent apparentes. Si l'on ajoute ensuite de l'acide, le réticule pâlit et se décolore sensiblement.

Le *nitrate d'argent* et l'acide osmique agissent comme des fixants très précieux ; de plus, administré à la dose voulue, le premier réactif imprègne les *ciments* des endothèles, appliqués contre les grosses travées. Avec ces réactifs, qui sont des fixants énergiques, les cellules connectives fixes gardent *leur place*, contre les mailles du réticule.

L'étude de pièces, préalablement injectées, avec de la masse à la gélatine colorée, n'est pas sans intérêt, non plus.

On peut pratiquer des injections soit interstitielles, soit vasculaires sanguines.

Les *ganglions* renferment des cavités lymphatiques anfractueuses, étendues et communiquant directement avec les vaisseaux lymphatiques ; les communications ont un certain rapport avec les puits lymphatiques, décrits plus haut. On peut saisir

accidentellement ces rapports, dans certaines préparations au *nitrate d'argent*, et voir les revêtements endothéliaux des canaux lymphatiques et des travées se continuer directement les uns dans les autres.

Dans d'autres régions anatomiques, — telles que chez l'adulte. ainsi que chez les sujets en voie de développement, — le tissu adénoïde n'est pas toujours aussi bien dessiné que nous venons de le dire pour les ganglions lymphatiques. Le réticule y est souvent plus difficile à retrouver; cela est naturel, puisqu'il est constitué par une substance fondamentale, dont l'apparition est toujours secondaire.

m. — **Tissu élastique.**

Bien accentué dans les ligaments jaunes de la colonne vertébrale, ainsi que dans la tunique moyenne des grosses artères, surtout de l'aorte. Il se distingue, avant tout, par la prédominance de la *substance élastique*; de là sa dénomination.

Pour bien étudier la *substance élastique*, il faut l'*isoler*.

L'ébullition, dans de la potasse ou dans de la soude caustiques, ou bien encore dans de l'acide nitrique dilué, de fragments d'aorte d'homme (ou mieux de bœuf) fournit un matériel qu'il suffit ensuite de dissocier proprement, dans une goutte de glycérine, pour obtenir des préparations très démonstratives. Il faudra naturellement éviter une action *trop énergique* des réactifs; sans cela, tout finirait par se dissoudre.

Nous avons ainsi parcouru toutes les formes principales du tissu connectif. Cette étude demandera à être parachevée, chemin faisant, lorsqu'on étudiera en particulier les organes spéciaux.

Partout, dans les tissus connectifs, nous avons trouvé les mêmes *éléments fondamentaux*, plus ou moins bien groupés, plus ou moins bien dessinés. Partout, nous avons pu saisir une corrélation intime de ces tissus, avec la circulation sanguine et lymphatique.

V. — LES TISSUS CARTILAGINEUX

Proche parent de celui que nous venons d'étudier, le tissu cartilagineux joue un rôle tout à fait analogue. Il sert également de *support,* et même, chez certains animaux, il remplace complètement le squelette osseux.

Apparaissant *très tôt* dans la vie embryonnaire, il *persiste* partiellement, en tant que cartilage, chez l'adulte; très souvent aussi, il *fait place* par la suite, à du tissu osseux. De là, la distinction rationnelle des anatomistes en : *cartilages permanents* et *cartilages transitoires.*

Les cartilages, sauf aux surfaces articulaires, sont toujours entourés d'une coque fibreuse, vasculaire et leur adhérant intimément : le *périchondre.* Il n'y a pas de limites tranchées, même au microscope, entre le tissu cartilagineux et le tissu périchondral. Le passage d'un tissu à l'autre a lieu constamment d'une façon insensible.

Les différentes variétés de cartilages sont pourvues constamment, — quoique souvent à un faible degré, de *vaisseaux sanguins propres,* surtout lorsque ces tissus sont disposés en masses un peu considérables.

Les vaisseaux sont le plus souvent superficiels ou *périchondraux;* parfois aussi, lorsque les cartilages sont épais, ils sont profonds ou *endochondraux.* Ceci a son importance en pathologie : lorsqu'ils s'enflamment, tous les cartilages, — il ne faut pas l'oublier, — sont susceptibles de se *vasculariser.*

Les rapports avec le système *lymphatique* sont moins bien connus ; cependant, il semble y en avoir d'intimes, surtout pour le cartilage hyalin (Budge).

Le cartilage apparaît tôt dans la période embryonnaire : se

forme par *différenciation locale directe* et l'accroissement ultérieur paraît se faire surtout aux dépens du périchondre.

Les puissances de *régénération* et de *réparation* semblent minimes, du moins pour les mammifères ; la première est plus marquée pour certains amphibiens, surtout pour les anoures. Chez les organismes supérieurs, la réparation se fait surtout sous forme de *cicatrice* fibreuse.

Le tissu cartilagineux est susceptible de *régression,* surtout dans la période sénile.

Quelquefois, dans un âge avancé, il subit une véritable *ossification.*

Le tissu osseux et le tissu cartilagineux se remplacent fréquemment dans la série animale et donnent lieu, tour à tour, à des pièces squelettiques dures et demi-dures.

Dans les cas pathologiques, le cartilage est susceptible de *s'enflammer ;* ou bien de produire des tumeurs spéciales : les *enchondromes,* simples ou combinés à d'autres tissus de la famille connective.

Au point de vue chimique, par l'ébulition prolongée, le tissu cartilagineux donne lieu à de la *chondrine ;* de là, la dénomination de *substance chondrigène* qu'on lui a donnée aussi quelquefois.

Les cartilages des animaux supérieurs se présentent sous différentes formes, que nous pouvons classer de la manière suivante :

I. Cartilages jeunes (en voie de différenciation).	1° *Cartilages embryonnaires.* 2° *Cartilages fœtaux.*
II. Cartilages adultes (différenciés).	3° *Cartilage hyalin.* 4° *Cartilage réticulé.* 5° *Cartilage fibreux.*

Cartilages embryonnaires. Ils sont à peine différenciés ; ils se composent de cellules arrondies, entourées d'une capsule et renfermant parfois, lorsqu'ils sont encore jeunes, des granulations vitellines. Le périchondre est à peine dessiné et sans vaisseaux sanguins propres.

Cartilage fœtal. Formé de cellules *avec capsules,* entourées d'une petite quantité de substance fondamentale, transparente, quelquefois d'aspect muqueux. Le périchondre est mieux indiqué que dans la forme précédente.

Cartilages adultes. Ils se distinguent les uns des autres, avant tout, par la qualité de leur substance fondamentale, plus ou moins bien différenciée. Quant à l'élément cellulaire, pris en lui-même et considéré isolément, il n'a rien de bien caractéristique. Les cellules sont souvent chargées de gouttes graisseuses et de matière glycogène ; elles sont constamment entourées de capsules simples ou composées; c'est du reste, la *présence de la capsule* qui caractérise avec netteté les tissus cartilagineux et qui permet de les différencier d'autres tissus, même voisins, comme certains tissus connectifs.

a. Cartilage hyalin. Il est caractérisé par la présence d'une substance fondamentale, en général *assez abondante,* transparente et comme vitreuse, sous de faibles grossissements. Les capsules, presque toujours *bien dessinées,* sont souvent de forme complexe, et il y a lieu, dans ce cas, de les distinguer en *capsules mères* et *capsules filles.*

Sous l'influence de quelques réactifs, comme l'acide sulfurique à chaud, elles se laissent séparer en un certain nombre de coques emboîtées concentriquement ; cette formation en couches concentriques, se prolonge parfois dans toute l'étendue de la substance fondamentale. D'après Budge et d'autres histologistes, la substance intercellulaire du cartilage hyalin serait sillonnée par un grand nombre de *canalicules,* qui mettraient en communication les cavités cellulaires, les unes avec les autres. Ce seraient là de vraies *voies lymphatiques.*

Le cartilage hyalin transitoire est destiné à faire place à l'os, et à venir ainsi compléter la formation ultérieure du squelette *(cartilages transitoires).* Les autres formes de cartilages (réticulé et fibreux) ne jouent point de rôle important dans l'ossification. C'est toujours dans le voisinage des points destinés à s'ossifier,

dans un laps de temps plus ou moins prochain, que le cartilage possède le plus *grand nombre* de vaisseaux sanguins propres.

b. *Cartilage réticulé (élastique* ou *jaune).* Il présente, surtout à une certaine distance du périchondre, des capsules très nettes, qui ont une striation concentrique accentuée et même, très fréquemment, des traces de striation radiaire. La substance fondamentale, prise en elle-même, est transparente comme dans le cartilage hyalin ; mais elle est sillonnée de nombreux réseaux de fibres et de fibrilles *élastiques*, passant, directement et sans interruption, du périchondre dans la substance cartilagineuse ; ceci confère à la substance intercellulaire un aspect opaque, surtout quand on l'observe avec de faibles grossissements. En outre, la substance élastique peut former des accumulations *granuleuses* autour des plus grandes capsules ; parfois même, les granulations dessinent aussi de vrais *réseaux* moniliformes, anastomosés, très curieux à observer de près. Grâce à la présence de la substance élastique, qui rapproche le cartilage réticulé du tissu connectif ordinaire, le cartilage élastique (pavillon de l'oreille, ailes du nez) est plus *souple* et plus *flexible* que le cartilage hyalin.

c. *Cartilage fibreux* (fibro-cartilage). C'est la forme la plus voisine du tissu conjonctif. N'étaient les cellules à capsules, rien ne le distinguerait de ce dernier ; si bien, que plusieurs histologistes le rangent volontiers parmi les variétés de tissu conjonctif proprement dit.

Sa substance fondamentale est formée de *fibrilles connectives,* qui tendent à constituer parfois, et d'une façon plus ou moins parfaite, de vrais faisceaux. Il y a, en outre, un *réseau délicat* de substance élastique et quelques vaisseaux sanguins propres. Les capsules cellulaires sont *alignées* régulièrement, comme les cellules à crêtes dans le tendon. La substance fondamentale est quelquefois organisée par *plans réguliers* superposés ; ceci est particulièrement visible dans les ménisques intervertébraux. Il ne faut pas confondre le cartilage fibreux, avec le cartilage hyalin devenu *fibrillaire*. Ce dernier est le résultat d'une altération sénile du cartilage hyalin.

Ajoutons, pour terminer, que, dans bien des endroits de l'économie, les différentes formes de cartilage et de tissu conjonctif sont en *contact direct* et passent *insensiblement* les unes dans les autres, par une série d'intermédiaires gradués. Il existe même un endroit, voisin du ménisque et du rebord vertébral, où l'on peut, pour ainsi dire, toucher à la fois, avec une pointe d'aiguille, tous les tissus de la famille connective : tissu cartilagineux hyalin et fibreux, tissus conjonctifs lâche et ligamenteux, tissu réticulé de la moelle osseuse, tissu osseux. Ceci est la meilleure preuve de leur parenté réciproque.

Etude pratique du tissu cartilagineux.

Tous les cartilages de l'économie sont intéressants à étudier ; mais quelques-uns sont d'un abord et d'un maniement plus commode, que d'autres.

Le *cartilage hyalin* pourra être pris de préférence : aux cartilages costaux (chez le chien adulte, cependant ils sont souvent calcifiés) ; aux surfaces articulaires d'encroûtement, à la tête du fémur, chez la grenouille, par exemple ; et, en général, à tous les cartilages hyalins jeunes, etc., etc.

Pour le *cartilage réticulé,* on prendra : l'oreille ou l'épiglotte, chez l'homme, le chien ou les gros animaux (bœuf, etc.) ; jeunes ou arrivés à l'état adulte.

Quant au *cartilage fibreux,* il est surtout bien représenté dans les ménisques intervertébraux et dans certaines grosses diarthroses, comme la symphyse du pubis, chez l'homme.

Il est inutile de dire qu'il faudra toujours prendre le périchondre, avec le morceau à étudier, de manière à avoir, en même temps, les rapports de cette tunique fibreuse, avec le cartilage et avec les autres tissus environnants.

Quant aux formes *embryonnaires* et *fœtales,* c'est dans des coupes d'embryons ou d'animaux très jeunes qu'on les observera le mieux.

Méthodes d'étude. Les mêmes méthodes d'étude sont applicables, à quelques nuances près, aux différentes variétés du tissu cartilagineux. Pour plus de brièveté, nous nous contenterons de faire une seule et unique description technique, applicable aux différentes variétés chondrales. L'expérimentateur devra donc répéter, pour chaque espèce de cartilage, identiquement la même série de recherches :

1° ACTION GÉNÉRALE DES RÉACTIFS. Avant de passer à l'étude de chaque variété de tissu chondral, passons en revue d'une façon générale, l'action des principaux réactifs :

Tous conduisent à l'altération, plus ou moins rapide, des éléments cellulaires ; aucun n'est capable de fixer les éléments cellulaires, définitivement et d'une façon vraiment satisfaisante.

Eau. Amène rapidement la *rétraction* des cellules. Celles-ci prennent d'abord des formes étoilées transitoires (prétendus mouvements amœboïdes de certains auteurs) ; puis, finalement, se ratatinent, en une masse informe, dans un coin de la cavité cellulaire. La rétraction provoque souvent, à son tour, l'expulsion de quelques *gouttelettes* d'aspect huileux, qu'on suppose, à tort ou à raison, être constituées en grande partie par de la matière glycogénique.

Acide acétique. Il *éclaircit* rapidement les coupes, surtout quand elles sont fraîches. Les *noyaux* deviennent, pour un moment, très apparents et prennent un aspect granuleux, surtout dans le voisinage du périchondre.

Dans les cartilages réticulé et fibreux, ce réactif fait apparaître très nettement les réseaux élastiques ; dans le fibro-cartilage, il gonfle et éclaircit les fibrilles de la substance fondamentale.

Quand on a fait préalablement intervenir une coloration prolongée au picro-carmin concentré, sur des préparations fraîches, — ou bien dilué, sur des pièces fixées, — la coloration se précise sur les noyaux cellulaires, tandis que les autres parties, sauf parfois les capsules du cartilage hyalin, se *décolorent* plus ou moins complètement. Ceci mérite d'être rapproché de ce que nous avons dit des réactions sur tissu connectif, et fait sentir la parenté étroite de ces deux ordres de tissus.

Teinture aqueuse d'iode. Elle fixe *temporairement* les éléments. Elle donne un aspect jaunâtre diffus à l'ensemble. Les cellules et les capsules prennent une teinte plus accentuée ; s'il y a des granulations *glycogéniques,* celles-ci prennent une teinte brun-acajou caractéristique. La rétraction cellulaire est momentanément entravée, sans être toutefois empêchée définitivement. L'action de l'iode, du reste, ne persiste pas dans des préparations définitives ; la teinte brune pâlit, pour s'effacer bientôt complètement.

Acide sulfurique. Il fait prendre aux granulations glycogéniques, traitées préalablement par la teinture d'iode, une couleur *violette* plus ou moins intense. Quelquefois il rend les capsules *plus visibles.* Appliqué à chaud et à la dose voulue, il les dissocie.

Picro-carmin. Colore tout d'une manière *diffuse,* d'abord en *jaune* (acide picrique), puis en *rose* de plus en plus intense (carmin). L'action est plus accentuée sur les cellules.

Dans le cartilage réticulé, le picro-carmin donne souvent une teinte jaune accentuée aux *fibrilles élastiques.* Cette réaction est d'ailleurs assez inconstante. Il faut ajouter que l'action du réactif est parfois très sensiblement modifiée, s'il y a eu intervention préalable d'un autre réactif, surtout s'il s'agit d'un acide, comme de l'acide chromique.

Acide chromique. Constitue un des meilleurs réactifs *coagulants* et *fixants,* quoique son action soit loin d'être aussi parfaite que dans d'autres tissus. Associé à l'acide osmique, il donne souvent de brillants résultats.

Acide osmique, puis *alcool.* Ne sont pas *trop mauvais* non plus.

Confection et étude des préparations. Il faudra procéder d'une façon méthodique et variée.

a. Pour commencer, il sera nécessaire de faire un examen *vivant* ou *frais.*

Pour cela, il faudra exécuter, avec le rasoir et à main levée, des *coupes* aussi minces que possible ; il est à remarquer, qu'à cause de la grande transparence des tissus, les coupes semblent toujours *plus minces* qu'elles ne sont en réalité.

Le mieux sera de couper les cartilages et d'étudier les coupes obtenues, immédiatement et sans l'intervention d'aucun réactif.

A cet effet, on les transportera, aussitôt faites, sur un porte-objet; on les couvrira rapidement d'une lamelle humectée simplement d'un peu de *hâle;* et on bordera de suite avec de la paraffine, pour empêcher le desséchement et l'action de l'air extérieur. Et, dans ce cas, pas de solution salée, ni pour humecter le rasoir, ni comme milieu d'observation!

Il faudra commencer immédiatement et sans tarder l'examen microscopique, en dessinant tout de suite ce qu'on voit; car toutes ces précautions ne peuvent que retarder de quelques minutes l'altération des éléments.

Par ce procédé, on acquerra sans difficulté les principales notions sur les différentes sortes de cartilages.

On s'attachera à observer les *cellules* avec leurs *noyaux*, uniques ou multiples, leurs granulations protoplasmiques, graisseuses et glycogéniques; il sera facile de se convaincre que, normalement, le *protoplasme* remplit entièrement la cavité capsulaire; mais, qu'abandonné à lui-même, il ne tarde pas à se rétracter, en subissant des modifications profondes. On examinera également les *transitions morphologiques* des éléments cellulaires cartilagineux, vers ceux du tissu connectif périchondral. On ne négligera pas, non plus, de bien observer les *capsules*, avec leurs différentes physionomies; ainsi que la *substance fondamentale,* avec ses variétés principales, — hyaline, élastique et fibreuse, — variant d'ailleurs notablement avec chaque type de tissu.

Si, après avoir soulevé la lamelle, on laisse, collées sur le porte-objet par leur propre adhérence, des coupes fraîches de tissu cartilagineux hyalin et qu'elles se dessèchent en liberté, on obtient des images très curieuses, dessinant un système de *lignes anastomosées,* qui correspondent très exactement à ce que Budge a décrit comme étant les canalicules lymphatiques propres du cartilage hyalin.

On pourra ensuite également, et, pour comparer avec les préparations fraîches, procéder à l'étude du cartilage, dans la solution

physiologique de *chlorure de sodium*. Avec ce réactif, la substance fondamentale est très facile à observer. Mais, pour ce qui concerne les éléments cellulaires, cette dernière méthode, quoique encore assez satisfaisante, est de beaucoup très inférieure à la précédente (examen sans le concours d'un réactif).

b. Ce premier examen terminé, on passera à l'action successive ou combinée d'autres réactifs; en ayant, toutefois, bien soin de procéder, chaque fois, avec une nouvelle *coupe fraîche*, prise non sans avoir éloigné toute la portion de tissu qui est restée au contact de l'air et qui, par conséquent, a subi des altérations plus ou moins profondes.

Pour les résultats à obtenir, nous renvoyons à ce que nous avons dit, plus haut, sur l'action générale des réactifs.

Après immersion d'un jour dans du picro-carmin et montage à la glycérine acide, on aura de belles préparations définitives (surtout pour les cartilages hyalin et réticulé), qui démontreront bien : les *cellules*, les *capsules*, ainsi que les *transitions* vers le périchondre. Les préparations à la glycérine acidifiée sont aussi très instructives; il ne faudra pas négliger d'en confectionner. Les tranches qui ont subi simplement l'action de l'acide acétique devront être conservées, sans autre, dans de la glycérine neutre; l'acide acétique a une action légèrement fixante.

c. Nous recommandons pour l'examen des cartilages *réticulé* et *fibreux*, de pratiquer des dissociations soigneuses.

Par ce moyen les *fibres élastiques*, les *fibrilles connectives* et les *capsules* cellulaires pourront être observées à l'état d'isolation. On en fera facilement des préparations *persistantes*.

d. Les pièces *durcies à l'alcool*, ou mieux, à la solution de Kleinenberg, ou, mieux encore, à l'*acide chromique*, sont aussi très bonnes. Nous recommandons beaucoup de faire des *sections topographiques étendues* et de monter au baume ou à la glycérine, avec ou sans coloration préalable.

Il ne faudra pas négliger de pratiquer des *sections topographiques*, intéressant à la fois le ménisque intervertébral et une

partie des vertèbres voisines; et cela, sur des colonnes vertébrales prises, non seulement chez l'*adulte,* mais aussi chez de *jeunes animaux,* ou mieux chez des *embryons.*

Voici, d'ailleurs, comment on procédera : Les morceaux de colonne vertébrale d'homme ou de gros animaux adultes, ainsi que la colonne entière d'un jeune animal (chat nouveau-né, jeune rat, etc.), seront plongés, pour la fixation des éléments, dans de la solution de Müller, puis décalcifiés par l'acide chromique (5 %); ou bien, ce qui est aussi une très bonne méthode, fixés et décalcifiés, tout à la fois, dans une solution à 7 ou 8 % d'acide nitrique. Après relavage prolongé à l'eau courante, pour éloigner tout l'excès d'acide, on immergera la pièce, un ou deux jours, dans de l'alcool. Puis on détaillera en coupes *transversales* et *longitudinales,* par rapport à l'axe de la colonne. L'inclusion à la celloïdine est parfois d'un bon secours, mais elle ne réussit bien que lorsque les pièces sont soigneusement débarrassées des dernières traces d'acide nitrique, par un lavage prolongé. La *coloration lente* au carmin ordinaire, ou au carmin à l'alun, fournit, sur de semblables objets, des préparations microscopiques très brillantes. C'est là qu'on pourra saisir avec commodité toutes les transitions des cartilages, entre eux et avec le tissu connectif.

Si l'on a, à sa disposition, des pièces, ayant subi l'injection avec les masses à la gélatine colorée (le mieux au bleu de Prusse), les images fournies n'en seront encore que plus instructives.

e. Quant à la *vascularisation* du périchondre et du cartilage lui-même, on pourra la rechercher éventuellement, en étudiant les préparations non injectées ci-dessus; ou, mieux et plus complètement encore, dans des pièces *injectées* à la masse à la gélatine.

Les vaisseaux sanguins, sillonnant la masse cartilagineuse, viennent du périchondre et sont toujours entourés d'un peu de tissu conjonctif; on les reconnaîtra aisément à leur revêtements endothéliaux caractéristiques. On les trouve en grande abondance, surtout dans le voisinage des points d'ossification (épiphyses, la côte chez les chiens jeunes, etc.).

f. Les cartilages à l'état embryonnaire et fœtal devront être

recherchés dans des coupes étendues d'embryons ; ou bien, encore, chez de jeunes animaux qui naissent normalement développés : comme le rat blanc, le lapin, etc.

3° Étude des régressions. Tous les cartilages sont susceptibles de régresser et de subir des altérations séniles.

Celles-ci sont bien nettes, surtout dans le cartilage hyalin.

Pour bien voir le *cartilage fibrillaire,* on prendra le cartilage hyalin des côtes d'un homme âgé. On en fera des coupes, qu'on examinera par les mêmes méthodes que ci-dessus. — Il sera facile de se convaincre que l'altération primordiale est celle de la cellule, et que c'est secondairement seulement, que la substance fondamentale subit la *transformation fibrillaire.*

Les fibrilles se voient séparément dans les cassures de la coupe. Elles ont des réactions spéciales : par l'acide acétique, elles ne gonflent pas ; colorées par le picro-carmin et traitées par l'acide acétique, elles *gardent* la coloration, ce qui les distingue nettement des fibrilles des tissus connectif et fibro-cartilagineux. La fibrillation dessine parfois très bien les territoires cellulaires.

Quant au *cartilage calcifié,* on pourra l'observer *frais*, ou après *décalcification.* Il ne faut pas confondre le cartilage hyalin calcifié avec le produit de l'ossification. La *calcification* est une régression sénile, ou bien pathologique ; l'*ossification* est la production normale d'un tissu, surtout dans le jeune âge. Les mots *calcification* et *ossification* ne sont donc pas synonymes dans le langage scientifique moderne. Les anciens ne faisaient pas cette distinction aussi nettement que nous, ils parlaient parfois également de *pétrification ;* ce terme est tombé fort justement en désuétude.

VI. — LES TISSUS OSSEUX

Le tissu osseux constitue la base principale du squelette dur de l'économie, chez les vertébrés supérieurs. A lui seul, il forme la plus grande portion du *système osseux*. Ce dernier comprend, outre l'*os proprement* dit : le *périoste*, la *moelle osseuse*, les *surfaces articulaires*, etc.

Certaines productions, telles que le *cément* et la *dentine*, doivent être aussi considérées comme étant du tissu osseux plus ou moins modifié.

Pour être fructueuse, l'étude du système osseux doit être faite *dans son ensemble;* l'examen de la substance osseuse isolée n'a pas grande valeur. Nous nous occuperons ici du *système osseux*, en prenant le terme dans son acception la plus large; nous examinerons d'abord les parties constitutives *séparément* (substance osseuse, moelle, périoste); puis nous passerons ensuite en revue leurs *rapports* mutuels et ce qui concerne le problème compliqué de l'*ossification*.

I. Substance osseuse.

Son aspect macroscopique est connu de chacun.

Sa *texture* varie beaucoup suivant les régions : tantôt elle est serrée (*os compact*), tantôt elle se présente sous forme de trabécules renfermant de la moelle (*os spongieux*). Ces deux formes principales d'os sont d'ailleurs reliées par de nombreux *intermédiaires*. Compact ou spongieux — l'os obéit rigoureusement, dans sa texture intime, aux lois mathématiques de la *statique* (Meyer, Culmann, Wolff). Les trabécules osseux, dessinent d'une

façon apparente les *trajectoires de la statique,* et, comme celles-ci, dans leur parcours, s'entrecoupent toujours *à angle droit.* L'os compact résulte simplement d'un tassement et d'un *rapprochement* — ou, inversément l'os spongieux d'un *écartement* toujours plus grand des trajectoires statiques.

L'os est un tissu *vasculaire.* Dans l'os compact, les vaisseaux circulent dans un système de canaux spéciaux (canaux de Havers); dans l'os spongieux, ils marchent dans les cavités de la moelle. *Canaux* et *lacunes médullaires* ne sont donc, en principe, qu'une seule et même chose; on peut, à quelques endroits déterminés de l'économie, saisir directement le *passage direct* des uns aux autres.

L'étude du tissu osseux présente à considérer les points suivants :

1° Le TISSU OSSEUX proprement dit avec :

a. Les *cellules* propres, renfermées dans les *cavités osseuses* ramifiées.

b. La *substance fondamentale,* sous forme de lamelles parallèles.

2° La VASCULARISATION sanguine et lymphatique.

3° L'INNERVATION PROPRE.

CAVITÉS OSSEUSES (improprement appelées *corpuscules osseux*). Sont des formations d'aspect étoilé, vraies *cavités* creusées dans la substance fondamentale et tapissées d'une *membrane propre,* de nature élastique (gaine de Neumann). Elles ont une forme générale en amande, et envoient de nombreux *prolongements* ou *canalicules* ramifiés et anastomosés ensemble (*canaux calcaires* des anciens histologistes). Les réseaux de canalicules s'ouvrent librement : d'une part dans les corpuscules osseux; d'autre part, dans les canaux de Havers; d'autre part encore, dans les lacunes médullaires; d'autre part, enfin, à la surface de l'os.

CELLULES OSSEUSES (appelées aussi *ostéoplastes*). N'ont, en elles-mêmes et en tant qu'éléments cellulaires, rien de bien caracté-

ristique. Quand elles sont *âgées,* elles *sommeillent* dans les cavités osseuses ; elles sont ratatinées et n'occupent qu'une partie de ces cavités. Quand elles sont encore *jeunes,* elles remplissent tout le corpuscule osseux et ses *prolongements.* Sous l'influence d'une *irritation* physiologique ou pathologique, la cellule osseuse endormie peut se *réveiller,* gonfler à nouveau, en se gorgeant de sucs; et même, si l'irritation est assez intense, proliférer : elle a donc gardé tous les apanages caractéristiques d'un élément cellulaire *vivant.*

SUBSTANCE FONDAMENTALE. Composée : d'un *substratum organique* (*osséine*), qui donne, par l'ébullition prolongée, de la colle ou *glutine ;* et de *sels* (phosphates, carbonates, etc.). Elle se présente avec une structure complexe ; elle est formée de *lamelles* juxtaposées parallèlement et placées toujours, d'une manière fixe, en rapport direct avec le mode de développement du tissu. On trouve toujours alternativement : une lamelle d'aspect *homogène,* et une lamelle d'aspect *strié,* quel que soit le sens dans lequel la coupe est tracée.

Les lamelles, observées au microscope ordinaire ou armé du *polariscope,* donnent lieu à des jeux de lumière compliqués et intéressants. Prise dans son ensemble et étudiée à de faibles grossissements, la substance fondamentale osseuse a l'aspect *homogène*, vitreux, transparent ; vue sous de forts grossissements, elle semble parsemée de fines *granulations.* Ces jeux de lumière curieux sont analogues à ceux qu'on observe dans les cartilages hyalins.

La superposition des lamelles forme des *systèmes,* orientés différemment et constamment, suivant la forme anatomique de chaque os. Ainsi, dans la diaphyse d'un os long et arrivé à complet développement, on peut distinguer : *a.* un système de *lamelles périostées,* parallèles à la surface externe ; *b.* des *lamelles médullaires,* entourant l'ouverture du canal médullaire ; *c.* des *systèmes de Havers,* concentriques par rapport à la lumière des canaux de même nom ; *d.* enfin, des *systèmes intermédiaires,* placés sans direction apparente, entre les systèmes de Havers. Dans l'os spongieux, les lamelles sont fréquemment interrompues.

Du reste, à l'examen attentif des différentes espèces d'os, — et, surtout, des systèmes de lamelles intermédiaires, — on se convaincra rapidement qu'il y a des traces de *remaniements* profonds, dans la masse du tissu ; ce qui prouve que l'os n'est pas un tissu aussi fixe, aussi stable qu'on pourrait le supposer au premier abord et lorsqu'on pense à sa solidité et à sa résistance aux efforts.

Vascularisations sanguine et lymphatique. La distribution anatomique des vaisseaux sanguins et lymphatiques est subordonnée à la *structure* et à la *texture* architecturale de l'os. Une grande partie des *vaisseaux sanguins* viennent, en droite ligne, de ceux du périoste et de la moelle ; cependant, beaucoup d'os de l'économie reçoivent directement aussi des *vaisseaux propres,* qui pénètrent par des ouvertures spéciales, décrites par la grosse anatomie, sous le nom de *trous nourriciers;* ainsi : le trou nourricier de la diaphyse humérale. La marche et la distribution des vaisseaux est réglée par les lois du développement de l'os, soumises elles-mêmes aux lois de la statique ; il y a donc une ordonnance *régulière* et *constante* pour chaque os. Au point de vue de la structure de leurs parois, les vaisseaux sanguins sont identiquement les mêmes, que ceux des autres tissus ; il n'y a donc rien de spécial à en dire.

Quant aux *vaisseaux lymphatiques,* ils forment généralement des *gaines périvasculaires,* le long des vaisseaux sanguins, surtout dans leur trajet dans les canaux de Havers. Ces gaines sont en communication : d'une part, avec les canalicules et, par leur intermédiaire, avec les cavités des corpuscules osseux ; d'autre part, elles s'abouchent avec les lymphatiques, très abondants, du périoste.

Innervation. Le long des principaux vaisseaux de l'os et parallèlement à eux, on voit marcher des *filets nerveux;* quelques-uns se terminent parfois dans des corpuscules spéciaux (corpuscules de Vater) ; la terminaison ultime des autres est encore inconnue. Y a-t-il des nerfs autres que des nerfs trophiques ? C'est ce qu'il est difficile de dire, mais il est possible qu'il y ait aussi des nerfs sensitifs.

II. Moelle osseuse.

Elle remplit exactement toutes les excavations, grandes ou petites, du tissu osseux, formant soit le canal médullaire, soit la spongieuse. L'aspect de la moelle est variable; ce qui fait qu'on distingue: la *moelle jaune,* riche en cellules adipeuses, et la *moelle rouge,* renfermant peu de graisse, mais par contre, riche en vaisseaux sanguins.

La moelle osseuse est construite sur le type du *tissu réticulé.* Elle est composée:

a. D'un *réticule fondamental,* très fin, très délicat, qui prend son point d'appui sur les vaisseaux sanguins.

b. De *cellules spéciales* ou *médullocelles,* de différents types et ayant la plus grande analogie avec les globules blancs de la lymphe. Vivantes, elles peuvent, comme les leucocytes, faire des mouvements amœboïdes. Elles ont, suivant les cas, un ou plusieurs noyaux.

c. De *cellules colorées* spéciales (Neumann, Bizzozero), avec noyau, qui ont été considérées, non sans raisons, par quelques histologistes, comme étant des *formes intermédiaires,* entre les globules blancs et les globules rouges du sang.

d. De *cellules,* plus volumineuses, de deux types principaux et qu'on ne retrouve pas nécessairement partout; savoir: les *cellules à noyaux bourgeonnants,* avec de grands noyaux bosselés irréguliers; les *cellules à noyaux multiples* (cellules géantes, polynucléaires, ou myéloplaxes) qui renferment de nombreux noyaux, placés surtout à la périphérie. Ces deux dernières formes d'éléments ont un grand rapport avec les cellules ostéoclastes; leur protoplasme est parsemé de granulations, bien visibles et qui semblent parfois orientées régulièrement.

e. Outre ces parties, on trouve, dans la moelle: des *vaisseaux*

sanguins, dont les capillaires ont les parois tapissées de cellules *hématoblastes ;* et des *nerfs*. Enfin, dans quelques cas, on peut constater, dans le réticule, des *globules rouges* à différents degrés de *destruction*. Certaines cellules en renferment de reconnaissables dans leur intérieur; quelquefois ils sont *fragmentés* et même réduits à l'état de *pigment,* plus ou moins net.

La présence de globules intermédiaires de Neumann, des cellules hématoblastes et de ces pigmentations a fait dire, contradictoirement : d'une part, que la moelle serait un lieu *de production* des globules rouges ; d'autre part, qu'elle serait, au contraire, un endroit *de destruction* de ces éléments. *Est in medio veritas,* car il est probable, en effet, que les deux fonctions coexistent l'une à côté de l'autre. En tout cas, les altérations pathologiques du sang *retentissent* avec la plus grande facilité sur la moelle osseuse ; celle-ci redevient alors rapidement rouge et embryonnaire.

III. Périoste.

C'est la membrane fibreuse d'*enveloppe* et de *protection* des os. Elle est à l'os ce que le périchondre est au cartilage. Son *épaisseur* et son *adhérence* varient beaucoup suivant les régions. Cette formation anatomique ne *fait défaut* qu'aux endroits où l'os est recouvert de cartilage ; ou bien, au niveau de certaines insertions tendineuses directes, ou ligamenteuses et particulièrement solides : comme à la ligne âpre du fémur.

Le périoste est composé de deux couches, partout bien distinctes :

a. Une *couche externe* ou fibreuse, dont les *faisceaux connectifs* sont orientés longitudinalement pour les os longs. Cette couche renferme, en outre : beaucoup de *tissu élastique,* qui forme parfois de vraies *cloisons ;* ainsi que des *nerfs* et de nombreux *vaisseaux* sanguins et lymphatiques. Le plus souvent, c'est sur cette couche externe périostée que les tissus environnants, surtout les tendons et les ligaments, prennent leur *insertion*.

b. Une *couche interne* ou médulleuse, dont la structure, par places, se rapproche beaucoup de celle de la *moelle osseuse.* Elle est riche en cellules semblables aux *médullocelles.* La portion qui confine directement à la substance osseuse est constituée par une rangée, simple ou composée, d'éléments cellulaires à fonctions spéciales : les *ostéoblastes,* qui jouent un rôle capital dans la genèse du tissu osseux ; et les *ostéoclastes,* qui creusent des cavités dans la substance osseuse, en la détruisant par résorption.

On peut voir souvent les fibres élastiques du périoste se continuer directement dans le tissu osseux proprement dit, sous forme de *fibres arciformes* ou *de Sharpey.* La présence de ces fibres élastiques dans l'os date toujours de la période de développement. On ne les trouve bien dessinées que dans les os d'*origine membraneuse :* ainsi, tout spécialement, dans la table externe du crâne.

Les *vaisseaux* du périoste sont en continuité directe avec ceux du tissu osseux.

Cette membrane joue en général, vis-à-vis de l'os, le rôle d'une vraie *membrane nutritive ;* si elle vient à être lésée, les parties osseuses voisines se nécrosent avec une grande facilité.

IV. Ostéogénèse.

La *genèse de l'os,* ou *ossification,* qu'il ne faut pas confondre avec la *calcification,* a donné lieu à de nombreuses controverses.

L'exposé qu'on en fait généralement dans les traités d'histologie laisse beaucoup à désirer. A notre sens, il faut ici bien faire la part des *théories* et des *faits.* Il n'est pas permis d'ignorer un certain nombre de ces derniers, car ils sont parfaitement acquis à la science. On pourra, par contre, les *interpréter* de bien des manières diverses, suivant le point de vue théorique auquel on se placera.

Le tissu osseux est plutôt d'*apparition tardive* dans l'économie. Avant sa formation, il est *représenté* soit par du tissu conjonctif, soit par du tissu cartilagineux ; de là, la distinction, d'ailleurs plus

dogmatique que réelle, en *ossification :* (a) *par voie membraneuse*, et (b) *par voie cartilagineuse.* Ces deux modes de développement, que, pendant longtemps, on a cru fondamentalement distincts, se révèlent au fond, à une analyse attentive, comme étant très analogues. Cependant, pour plus de commodité, nous les décrirons séparément dans notre exposé.

1. Ossification par voie cartilagineuse ou enchondrale.

La pièce osseuse future est primordialement représentée, dans ce cas, par une formation cartilagineuse, qui possède déjà les principales formes anatomiques qu'elle aura plus tard. Ce cartilage, toujours du type hyalin, *devient vasculaire,* par pénétration, dans son intérieur et à des endroits déterminés, de bourgeons sanguins, accompagnés d'un peu de tissu conjonctif.

Bientôt il se forme des îlots, fixes et bien dessinés pour chaque cartilage, qui ne sont rien d'autre que la première ébauche des *points d'ossification.* La limite, toujours parfaitement nette, entre le nouvel os en voie de formation et l'ancien cartilage, s'appelle *ligne d'ossification.*

Quand on parcourt, *à partir de la zone cartilagineuse,* les différentes couches entourant un point osseux, nous enregistrons les faits suivants :

Le cartilage hyalin présente tous les signes d'une forte *prolifération cellulaire ;* il y a souvent deux noyaux dans la même cellule, deux cellules dans la même capsule, etc. Plus loin, les cellules montrent tous les signes d'une reproduction plus active encore; et forment, dans la *même capsule mère,* des séries alignées et toujours dans un sens vertical, par rapport à la ligne d'ossification. Enfin, plus loin encore, on finit par se trouver en présence de sortes de *tubes*, placés côte à côte, parallèlement et avec régularité; c'est le *cartilage sérié*. A ce niveau, la substance fondamentale de l'ancien cartilage est presque entièrement *résorbée,* et fait place aux cellules du cartilage sérié, en même temps qu'elle se charge de sels calcaires, sous forme de grains très fins; c'est la *zone de calcification* du cartilage.

Ces modifications s'accusent d'ailleurs, à l'examen macros-

copique, par des variations de couleur que le médecin fera bien de se mettre dans la vue; attendu que, dans le rachitisme, la syphilis et d'autres maladies, il se produit justement à cet endroit des changements importants d'aspect anatomique. Dans cet examen à l'œil nu, nous enregistrons : la teinte *nacrée*, *blanchâtre* et normale du cartilage; ensuite, vient une zone *bleuâtre* et plus transparente qui correspond à la zone de prolifération cellulaire; puis une bande *opaque*, blanc jaunâtre et un peu striée, qui répond au cartilage sérié et calcifié. — Arrivé au niveau de la ligne d'ossification, l'observateur constate que le tableau change brusquement. Le tissu de nouvelle formation a une couleur générale *rouge*, qui tient à la présence d'une *vascularisation sanguine* abondante. Au sein de cette teinte rouge générale, on distingue de petites *stries blanchâtres*, orientées verticalement, par rapport à la ligne d'ossification, et qui, à mesure qu'on s'éloigne de cette dernière, deviennent plus épaisses, mais aussi, en même temps plus rares. Elles sont composées d'une matière dure, résistante : ce sont les *travées du nouvel os* en voie de formation. Entre ces travées, se trouve, décelée par sa teinte rouge foncé, la *moelle osseuse*, dans des *cavités* allongées et souvent anastomosées ensemble.

Au microscope, on voit, dans l'axe de chaque lacune médullaire, un *vaisseau sanguin*. Arrivés à la ligne d'ossification, les vaisseaux sanguins s'arrêtent brusquement et s'infléchissent sur eux-mêmes, en constituant des *anses ou crosses*, sous forme de capillaires, plus ou moins dilatés, et qui, exceptionnellement s'anastomosent avec quelques *rares* vaisseaux, venant en sens inverse, depuis le cartilage.

Reprenons maintenant, plus en détail, quelques-unes de ces données, dans un exposé complémentaire :

Les tubes du cartilage sérié sont *ouverts* du côté de la ligne d'ossification ; à ce niveau, ils communiquent librement entre eux et avec les cavités de la moelle osseuse. Les dernières cellules cartilagineuses proliférées qu'ils renferment, prennent volontiers un aspect ratatiné, qui leur a valu le nom caractéristique de *cellules flétries*. Celles-ci touchent constamment, d'une

façon directe et sans transition, aux premières cellules de la moelle osseuse.

Quant à la moelle elle-même, elle est constituée immédiatement au niveau de la ligne d'ossification, par des *cellules embryonnaires* (*moelle embryonnaire* ou *fœtale*) ; puis, à mesure qu'on s'éloigne de la ligne d'ossification, elle fait place à un tissu médullaire, à caractères de plus en plus *adultes*. — D'abord renfermée dans des cavités, extrêmement étroites et limitées par des travées minces, qui constituent ce que l'histologiste moderne appelle maintenant l'*os fœtal*, elle forme, un peu plus loin, des masses plus considérables, à mesure que les travées osseuses devenant plus rares et plus épaisses, se transforment en *os adulte*. Il est d'ailleurs facile de se convaincre que les travées osseuses débutent, d'abord, par des bandelettes délicates, d'*aspect homogène,* et qu'en s'éloignant de la ligne d'ossification, elles s'épaississent et se différencient en vraies lamelles d'os, disposées, au début, avec une grande régularité et concentriquement par rapport aux excavations médullaires.

Une faible partie de la *substance fondamentale* du cartilage sérié et calcifié persiste, mais réduite à son minimum ; ce qui est facile à comprendre, puisqu'elle a dû faire place aux cellules cartilagineuses proliférées. Une toute petite partie de cette matière échappe à la destruction et se maintient, parfaitement reconnaissable, au-delà de la ligne d'ossification. On la retrouve, alors, noyée *dans l'axe* des bandelettes osseuses nouvellement formées : elle y constitue ce que l'on a appelé très heureusement les *travées directrices* et persiste, sans modifications dans l'os produit. Notons en passant que dans certaines conditions anormales, comme dans le rachitisme, un certain nombre de cellules cartilagineuses peuvent être *entraînées* et même, ensuite, être englobées dans l'os lui-même, sous forme d'îlots isolés ; ce qui, probablement plus tard, peut devenir une source de désordres dangereux.

Passons au *nouvel os* formé :

Celui-ci apparaît, avons-nous dit, tout près de la ligne d'ossifi-

cation, sous forme d'une petite couche festonnée et déposée immédiatement contre chaque travée directrice. Du côté de la moelle, le nouvel os déposé est tapissé par une rangée continue d'éléments cellulaires : ce sont les cellules *ostéoblastes*, destinées à devenir assurément, par la suite, des *cellules osseuses* proprement dites, ou *ostéoblastes*.

Les ostéoblastes sont de forme étoilée, à prolongements variés et souvent anastomosés ensemble ; ils présentent de nombreux signes d'une prolifération active : noyaux multiples, étranglements incomplets du protoplasme, etc. Ces éléments, généralement mal décrits dans les traités d'histologie, ont été quelquefois comparés, et bien à tort d'ailleurs, à un revêtement épithélial ; cette façon malheureuse de présenter les faits a donné lieu à des confusions très regrettables.

A une petite distance de la ligne d'ossification, on peut constater facilement que quelques ostéoblastes sont *à moitié engagés* dans la nouvelle substance fondamentale osseuse, et qu'à chaque élément, correspond un *feston* de celle-ci. Plus loin encore, la substance fondamentale, devenant plus épaisse, *entoure complètement* une ou plusieurs rangées de ces éléments ; au premier abord, on dirait que l'on a affaire à des cellules cartilagineuses, avec leur capsule. Mais un examen plus attentif démontre que les cellules, ainsi englobées (ostéoplastes), ont de nombreux prolongements, anastomosés *directement* avec ceux des cellules osseuses proprement dites et des ostéoblastes voisins.

Dans les parties du jeune os, qui confinent à la moelle osseuse, il n'y a pas encore de *lamelles osseuses* dessinées ; ce n'est que plus profondément, et d'une manière encore mal expliquée, qu'elles font leur apparition.

La critique de ces faits démontre que les ostéoblastes, en proliférant, *doivent donner lieu* à une couche de cellules qui, pour devenir cellules osseuses, s'entourent d'une matière organique, base de la future substance fondamentale de l'os.

Les *canalicules osseux*, pour nous, contrairement à ce que des histologistes de grand renom ont affirmé, résultent du *moulage*

direct de la substance intercellulaire, se déposant immédiatement autour des ostéoblastes et de leurs prolongements. Plus tard, seulement, ceux-ci se rétractent et laissent à leur place un espace vide, sous forme de canaux creux.

Les couches nouvellement déposées de substance intercellulaire sont de nature purement *organique:* ce n'est que plus profondément, qu'elles renferment des substances salines. A mesure qu'on s'éloigne de la ligne d'ossification et que le nouvel os déposé devient plus épais, la lumière des cavités médullaires est plus rétrécie ; ainsi se forment, par apposition centripète, les *systèmes de Havers*, à disposition régulièrement concentrique, autour des vaisseaux sanguins.

Un autre facteur, que nous avons intentionnellement négligé jusqu'à maintenant, vient jouer un rôle très important dans le *modelage définitif* de l'os : c'est la *résorption osseuse.*

Elle est produite par des cellules spéciales : les cellules *ostéoclastes,* éléments volumineux, polynucléaires et à protoplasma granuleux, qui se creusent dans l'os des excavations arrondies et plus ou moins profondes *(lacunes semi-lunaires de Howship).* On peut retrouver ces éléments curieux, déjà très près de la ligne d'ossification ; ce sont eux assurément qui, par un travail curieux, agrandissent la plupart des cavités médullaires, des diaphyses, aussi bien que la spongieuse; d'ailleurs, les ostéoclastes ont une importance capitale dans le *modelage définitif* des os, ainsi que dans les modifications pathologiques du squelette. Le médecin ne saurait trop bien les étudier.

Il ressort nettement de cet exposé que le cartilage primitif, — à part une petite partie, représentée par les travées directrices qui ont échappé à la résorbtion, — est en définitive *complètement remplacé* par la substance osseuse.

2. Ossification par voie membraneuse ou périostale.

Mais il ne faut pas oublier qu'il y a des os entiers, ou des portions d'os, qui ne sont jamais primordialement représentés par de

la substance cartilagineuse ; les os plats du crâne et une grande partie des diaphyses des os longs sont dans ce cas.

Ici, nous voyons le nouvel os se dégager *aux dépens d'un tissu fibreux :* périchondre ou périoste.

Une analyse attentive nous fera reconnaître, cependant, les *mêmes faits fondamentaux,* que nous venons d'enregistrer, à propos de l'ossification par voie cartilagineuse.

L'acte initial est encore ici, jusqu'à un certain point, — comme d'ailleurs pour l'ossification enchondrale, — l'apparition de *vaisseaux* sanguins, dans un ordre déterminé. Autour de ceux-ci se produit de la *moelle embryonnaire,* de laquelle se dégage de la substance osseuse, identiquement par le même mécanisme que nous avons indiqué, pour l'os d'origine enchondrale. Il y a aussi des cellules *ostéoblastes* et *ostéoclastes ;* mais les *travées directrices,* comme celles du cartilage, manquent; toutefois, dans quelques cas, on trouve, à leur place et jouant le même rôle, des fibres venant du périoste *(fibres de Sharpey).*

3. Ossification par voie tendineuse.

Au niveau de certaines insertions ligamenteuses ou tendineuses, la genèse osseuse a lieu par envahissement direct du tendon, et les cellules connectives à crêtes deviennent directement corpuscule osseux. On pourrait, dans ces cas, parler d'une ossification *par voie ligamenteuse* ou *tendineuse.*

Tels sont les *principaux faits,* faciles à constater, de l'ossification. Il est possible d'en dégager des théories et des doctrines divergeantes et diamétralement opposées.

Quelques-uns admettent *deux ossifications* distinctes : enchondrale, périostale. D'autres ne veulent avoir qu'*un seul type* de formation, soit enchondrale, soit périostale. Nous serions, pour notre compte, enclins à admettre, cette dernière alternative. Empressons-nous néanmoins de dire que cette dernière idée, plus simpliste, plus logique, permet cependant bien des controverses : soit sur le rôle joué par les cellules cartilagineuses, soit sur l'ori-

gine des éléments de la moelle embryonnaire, ainsi que des ostéoblastes et des ostéoclastes.

Nous ne pouvons entrer, ici, dans ces discussions ; cela nous mènerait beaucoup trop loin.

Ajoutons seulement qu'il y a assurément une très grande *parenté*, entre les ostéoblastes et les ostéoclastes; et que les *pressions et les tractions mécaniques semblent influer énormément, pour leur différenciation, dans un sens ou dans un autre.*

Ce seraient donc, finalement, les parties molles qui détermineraient la forme du squelette.

V. Accroissement et modelage ultérieur de l'os.

Une fois produit, l'os est soumis à des *remaniements* nombreux et souvent très profonds.

Ainsi, pour ne citer qu'un exemple: la côte, chez l'adulte, est, en définitive, presque en entier, d'origine périostée; elle possède, sur la face extérieure, une *surface générale d'apposition*, et, sur sa face intérieure, une *surface de résorption.*

C'est par le double travail, d'*apposition*, d'une part (ostéoblastes), et de *résorption*, d'autre part (ostéoclastes), que se fait l'*accroissement* du thorax. Toutes les pièces du squelette, du reste, présentent des *faits analogues*, quoique pas toujours aussi frappants.

A aucune période de la vie, l'os n'est tout à fait *stable;* il est perpétuellement en *voie de démolition* et de *reconstruction ;* l'on peut même dire hardiment que, malgré son apparente solidité, il y a peu de tissus *aussi instables* que lui.

Disons, pour terminer cet exposé théorique, que l'os est susceptible de *régénération* et de *réparation;* à condition, toutefois, que les ostéoblastes restent intacts. La *transplantation* de la couche ostéogène, ou médullaire du périoste engendre de l'os.

Pathologiquement, le tissu osseux donne lieu aux tumeurs de la famille des *ostéomes* et des *ostéosarcomes.*

Au point de vue de l'anatomie comparée, on doit, dans la pratique, distinguer à travers la série animale, — ainsi que dans les périodes de développement du même individu, pris dans le haut de la série, — différentes formes d'os. L'os des poissons osseux correspond assez bien à l'*os fœtal* des mammifères. On entend par os fœtal, dans ce cas, celui qui est le plus voisin de la ligne d'ossification, avant qu'il ait subi des remaniements ultérieurs. Il y a donc, — ici, comme pour les autres tissus, — une vraie gradation allant, d'un type simple, vers des types de plus en plus complexes.

VI. Etude pratique des tissus osseux.

C'est ici le cas ou jamais d'avoir des préparations nombreuses, prises dans toutes sortes de régions et faites par les méthodes les plus variées. Ces préparations devront toujours être *topographiques,* et, par conséquent, autant que possible, intéresser des os entiers, ou du moins des fragments étendus d'os.

Nous recommandons la série d'observations suivantes :

1. Os macéré. Il est très bon pour une première orientation, seulement, il demande à être *préparé* d'une manière toute spéciale, si l'on veut obtenir de belles préparations microscopiques.

Voici comment il faut procéder : On prendra un os *bien frais,* (le fémur adulte de l'homme ou d'un gros animal, par exemple), on enlèvera soigneusement le périoste et la moelle, en évitant *toute dessication,* sinon la graisse imprègnerait la substance osseuse et l'empêcherait de se mouiller par l'eau de macération. Il sera même nécessaire, à cause de cela, de faire l'opération sous l'eau, d'une façon rigoureusement ininterrompue. Une fois bien débarrassé des parties accessoires, on laissera l'os plonger pendant plusieurs mois consécutifs, dans de l'eau, au fond d'une terrine, en prenant garde qu'il *immerge toujours et complètement* dans le liquide.

On empêchera l'*accès de la lumière,* car celle-ci favorise la

formation d'algues, qui donnent, à la longue, à la pièce une teinte verdâtre, et sont ensuite très gênantes pour l'observateur.

Il faut toujours se contenter d'ajouter du liquide à mesure qu'il s'évapore, sans jamais le changer ; ainsi, la pourriture s'établit plus rapidement.

Une fois les parties molles complètement décomposées, on abandonnera la pièce, pendant quelques mois *en plein air, au soleil et à la pluie ;* alors, l'os deviendra parfaitement blanc et sera prêt à être utilisé.

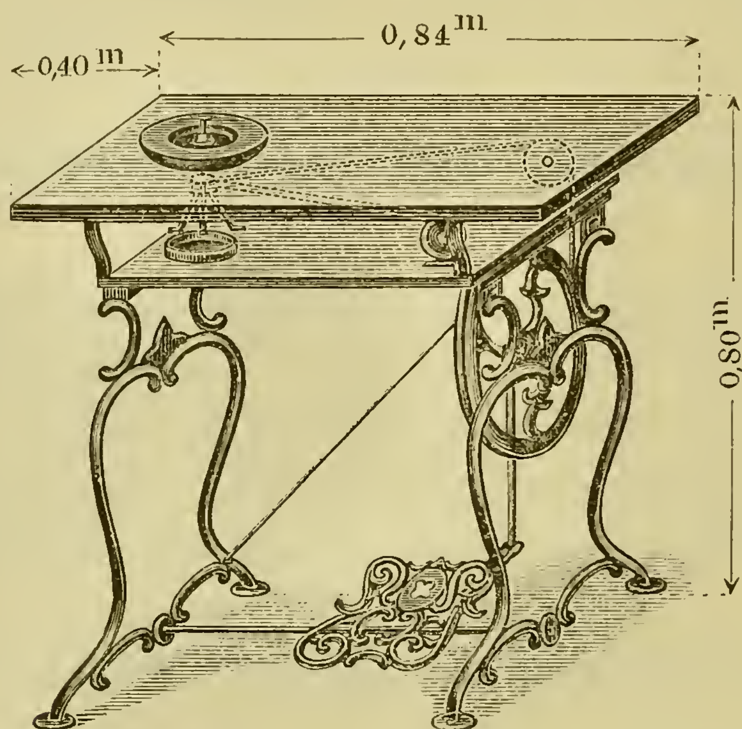


Fig. 117. Tour a meules plates et interchangeables, pour faire des coupes d'objets durs (de l'auteur, d'aprés un de ses dessins).

On débitera alors son os en *tranches fines,* au moyen d'une petite scie à découpage. Les sections faites dans la diaphyse devront avoir une *direction déterminée :* elles devront être *transversales* et *longitudinales ;* ces dernières *tangentielles* à la surface, ou bien suivant un des *rayons* et de manière à intéresser, à la fois dans la même coupe, les surfaces périostées et médullaires.

Pour obtenir des *coupes microscopiques* suffisamment fines, il faudra *user* les tranches sur une pierre à aiguiser plate; ou bien, encore mieux, sur une *meule* à grain fin. Nous avons construit, pour cet usage, un tour à meules horizontales et interchangeables, qui nous rend journellement d'excellents services dans nos re-

cherches particulières (fig. 117, 118, 119) et toutes les fois que nous devons faire des coupes fines d'objets durs.

Pour réaliser de belles préparations, il faut *polir* les deux faces du morceau. On peut, pour cette opération, retenir simplement le fragment d'os avec la pulpe du doigt, en ayant soin, toutefois, de ne pas *user* ce dernier jusqu'aux corps papillaires, ce qui arrive très facilement et sans qu'on s'en aperçoive !

Ce procédé est suffisant dans la pratique courante.

Dans des recherches plus soignées, quelques histologistes usent la pièce proprement, d'abord sur une des faces de la tranche ; puis, après l'avoir bien desséchée, ils la collent, par la face polie, sur une lame de verre, avec du baume du Canada, *solidifié par évaporation,* chauffé et ramolli sur la lampe ; ensuite, ils achèvent, au degré voulu, l'amincissage et le polissage du fragment ainsi fixé.

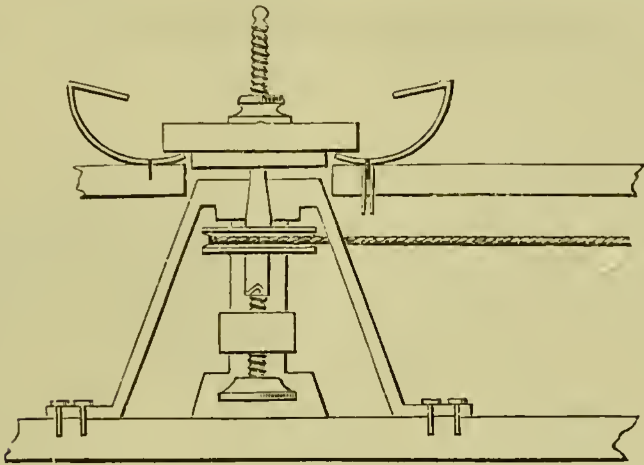


Fig. 118. Mécanisme du tour, fig. 117 (dessin de l'auteur).

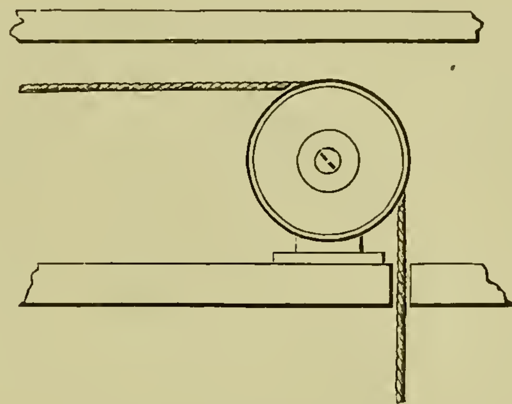


Fig. 119. Poulie de renvoi du tour, fig. 117 et 118 (dessin de l'auteur).

Il faut, autant que possible, faire agir la meule toujours dans le même sens, et diminuer graduellement la pression vers la fin de l'opération ; sans cette précaution, la surface de la coupe aurait des raies trop visibles au microscope et gênantes pour l'observation des détails.

Une fois les tranches convenablement usées, on passera à leur *montage* en préparation *définitive.* Il faudra les relaver proprement à l'eau et à l'alcool, puis les mettre sécher comme il faut.

Suivant le résultat cherché, on les montera de différentes manières :

a. On en mettra quelques-unes dans du *baume bien liquide.*

Celui-ci, très avide d'air, ne tardera pas à pénétrer partout, en remplissant les corpuscules et les canalicules; on aura ainsi des pièces très transparentes, éminemment favorables à l'étude des *lamelles osseuses,* tandis que les autres détails seront difficiles à saisir.

Sur des préparations ainsi obtenues, et par l'application de forts grossissements, on pourra observer les *lamelles striées* et *homogènes.* Avec un faible grossissement, au contraire, on aura une bonne *image topographique* de l'os en général.

Dans les coupes transversales du fémur, on verra bien les *systèmes de lamelles* périostées, médullaires, de Havers et intermédiaires.

b. D'autres tranches devront être étudiées *à sec.*

On se contentera de les mettre, sans aucun liquide additionnel, entre une lamelle et une lame de verre, qu'on retiendra ensemble, avec un cadre de papier collé à la gomme arabique. Les cadres au baume ou au bitume, ainsi que nous l'avons déjà dit précédemment, sont à rejeter; ces substances pénètrent sous le couvre-objet et endommagent tout (v. p. 80).

L'étude de pièces ainsi montées n'est pas toujours très agréable, à cause des *raies* occasionnées par la meule ou la pierre.

c. On aura des résultats plus satisfaisants, en montant: dans du baume du Canada solide et chauffé; dans de la *glycérine ordinaire;* ou mieux encore, dans de la *glycéro-colle* et en ayant soin, toutefois, de ne pas employer cette dernière trop chaude, car sans cela l'air sortirait des corpuscules et des canalicules, en produisant des bulles, très désagréables et difficiles à éloigner ensuite.

A cause de la grande différence d'indices de réfraction, entre l'air et la glycéro-colle, les corpuscules et les canalicules se détacheront franchement *en noir,* sur champ clair, circonstance très favorable pour voir leurs moindres ramifications. Par contre, les lamelles osseuses ne seront pas facilement perceptibles.

d. Au lieu d'os compact, il faudra prendre ensuite de l'*os poreux:* la calotte crânienne macérée, par exemple, qu'on traitera par les mêmes procédés que ci-dessus.

On verra, alors, la disposition des cavités médullaires et des trabécules de la spongieuse; les lamelles sont orientées d'une manière moins régulière et plus complexe que dans l'os compact.

Il est inutile de dire qu'il ne faut point tenter l'application des *réactifs colorants* sur de semblables pièces macérées; elle ne donnerait aucun résultat net et on n'en pourrait tirer aucune conclusion logique.

2. **Os frais.** Son étude est absolument indispensable, pour compléter les recherches précédentes.

Il faudra procéder de différentes manières:

Avec un scalpel un peu fort, bien trempé et bien aiguisé, il est possible de *tailler,* bien plus facilement qu'on ne croit, la substance osseuse, en tous sens, *comme un morceau de bois;* ainsi on pourra obtenir, sous forme de petits copeaux minces, des coupes très présentables.

Une autre méthode, également fort instructive, consiste à s'adresser aux os, disposés naturellement en *lames minces :* ceux de l'ethmoïde et des sinus nasaux, par exemple, sont particulièrement appropriés à ce genre de recherches. Il suffira d'en placer, dans un peu de solution titrée de chlorure de sodium, des fragments, débarrassés, par un raclage soigneux, de la muqueuse et du périoste qui les recouvrent normalement.

Une fois ces préparations fraîches montées, on procèdera à leur examen méthodique et aux expériences suivantes :

a. On fera d'abord, dans l'*eau salée titrée,* une étude sommaire à de faibles, puis à de forts grossissements; avec ces derniers, il sera possible de distinguer, sans autre, les cellules osseuses logées dans les cavités corpusculaires.

b. Le traitement direct sous le microscope, de la même prépa-

ration, par l'*acide acétique,* rendra l'image plus évidente. On assistera, en outre, au dégagement d'*acide carbonique,* provenant de la décomposition chimique *(décalcification)* des sels contenus dans la substance fondamentale.

Pour faire une préparation *persistante,* il suffira de monter les pièces, traitées ou non par l'acide, dans une goutte de glycérine fraîche; après les avoir relavées à l'eau pure, afin d'éloigner le chlorure de sodium ou l'excès d'acide, ainsi que les bulles de gaz que ce dernier aura pu produire.

c. Des morceaux d'os frais, mis quelques heures (pendant qu'on exécute les expériences ci-dessus) dans du *picro-carmin* concentré, subiront une *fixation* et une *coloration* très favorables pour voir les *cellules osseuses* (ostéoplastes).

Le traitement ultérieur, par un peu d'acide acétique, *décalcifiera* l'os et *précisera* la coloration sur les éléments cellulaires. Dans ces préparations, le contenu des canaux de Havers sera en outre bien conservé. On pourra, après relavage, monter directement à la glycérine, ou bien au baume, après deshydratation à l'alcool et à l'essence.

Ces dernières pièces sont particulièrement appropriées pour démontrer la présence des cellules osseuses (ostéoplastes) dans les cavités des corpuscules osseux.

d. Le traitement par un peu d'*acide sulfurique,* — en faisant passer sous les yeux de l'observateur, un courant de ce réactif, dilué dans une préparation d'os, montée dans de l'eau, — sera des plus instructifs.

Si on pratique l'expérience, de manière à bien observer au microscope ce qui se passe, on verra d'abord une *effervescence* très active, due au dégagement d'*acide carbonique.* Puis, bientôt, il se produira de nombreux *cristaux en aiguille,* isolés et flottants, ou bien groupés en macles radiaires, formées par du *sulfate de chaux.* Comme cette substance est très peu soluble dans l'eau, il y a très vite saturation et la cristallisation se produit rapidement. Cette réaction est devenue classique pour la *recherche microscopique des sels de chaux;* le jeune histologiste fera

bien de s'en souvenir, car il aura souvent l'occasion d'y recourir.

Une fois la décomposition chimique terminée, on pourra laver légèrement la pièce ainsi traitée, et transporter, sur un nouveau porte-objet, dans une goutte de glycérine pure ; on obtiendra ainsi une bonne préparation durable.

3. Os décalcifié. La *décalcification* permet de couper facilement l'os. Voici comment on procèdera :

a. Une méthode excellente et absolument indispensable consiste à débarrasser l'os des sels qu'il renferme, afin de pouvoir y pratiquer *des coupes,* comme dans les autres tissus mous.

A cet effet, on fait subir à la pièce l'action d'un réactif *fixant,* comme l'alcool ; puis on la *décalcifie,* en la plongeant, le temps voulu (24 heures et plus), dans un *acide dilué :* acide chlorhydrique (2-3 °/o), nitrique (5 à 8 °/o).

b. On pourrait aussi l'immerger, *de suite,* dans un réactif *fixant et décalcifiant* à la fois : acide chromique à 5 °/o ; acide picrique concentré, ou mieux encore, acide nitrique fort (à 7 ou 8 °/o).

Au bout d'un temps, qui variera selon la grosseur de l'objet, la substance osseuse sera devenue suffisamment molle.

Il faudra en tous cas opérer un *relavage* à l'eau courante, pour éloigner toute trace d'acide. Il sera bon, en outre, de mettre la pièce dans de l'alcool fort pour la raffermir ; l'*imprégnation,* à l'albumine ou à la paraffine, donnera, dans quelques cas, de bons résultats.

Nous conseillons de conserver le périoste et la moelle, pour avoir les *rapports topographiques.* La celloïdine réussit mal dans ce cas ; l'acide paraît la rendre friable.

c. Des coupes de diaphyse fémorale décalcifiée, coupées dans différents sens (transversalement, longitudinalement, radiairement, tangentiellement à la surface) et montées à la glycérocolle, seront aussi très instructives.

d. Nous recommandons d'une manière toute spéciale l'étude des os suivants : la *diaphyse fémorale,* chez l'homme ou les gros animaux domestiques ; les *côtes* de jeunes animaux et d'embryons (partie médiane, et surtout *symphyse chondro-costale*) ; ainsi que les os longs, tels que le *fémur,* le *tibia,* l'*humérus,* en coupes à direction variée, longitudinales, transversales ; enfin, les os de la *calotte crânienne* adulte et en voie de développement, etc.

e. Les *colorations,* surtout par la *méthode lente,* ainsi que le montage dans des milieux divers (glycérine, glycéro-colle, baume, résine de Dammar, etc., etc.), sont absolument indispensables.

On colorera, — de préférence en coloration lente, — les coupes : au carmin neutre, au carmin aluné, à l'hématoxyline etc., seuls ou diversément associés.

Il sera nécessaire de procéder aussi avec des *pièces injectées ;* l'emploi de la *masse au bleu de Prusse* et la décalcification à l'*acide chlorhydrique,* ou, mieux, à l'acide nitrique fort, donnent les meilleurs résultats.

Dans l'examen de toutes ces pièces, l'étudiant en médecine vouera, chemin faisant, un soin tout particulier à l'étude de l'*ossification,* si nécessaire pour qu'il comprenne bien, plus tard, la pathologie des os. Il faudra, non seulement s'enquérir du phénomène général de la *production* du tissu osseux, mais se rendre un compte exact de l'*accroissement* et du *modelage* ultérieurs de cette substance, au moyen des *appositions* et des *résorptions superficielles* ou *intimes.*

La recherche des *rapports* de l'os et du périoste avec les autres tissus, (particulièrement avec les insertions tendineuses et les fibres de Sharpey) offre également un grand intérêt.

Résumons rapidement les principaux points à noter dans l'examen de toutes ces préparations variées :

1° Ostéoblastes. On les verra partout, sous forme d'une rangée continue, formant un *tapis,* à la limite de la substance osseuse ;

sauf toutefois, aux endroits déterminés, occupés par les *ostéoclastes,* ou par les insertions tendineuses et ligamenteuses.

Il faudra bien se rendre compte de leurs formes étoilées et anastomosées, ainsi que de leurs *rapports* mutuels avec les tissus environnants, surtout avec le nouvel os formé.

Ainsi, seulement, on comprendra bien leur *rôle générateur* du tissu osseux.

Les ostéoblastes de toutes les régions de l'os (périoste, canaux de Havers, grandes et petites cavités médullaires) sont *en continuité* directe les uns avec les autres; ils forment donc bien un *revêtement cellulaire continu.*

2° Ostéoclastes. Doivent être recherchés dans des régions déterminées; les coupes de côtes colorées et en sections transversales, sont particulièrement favorables.

On les trouve surtout en couche continue, remplaçant les ostéoblastes, à la face interne de ces os. A cet endroit, on saisit bien quel travail colossal de *résorption osseuse* ils effectuent. On verra aussi avec netteté les *lacunes* de Howship, que ces éléments *creusent* dans la matière osseuse.

Partant de cette première observation, on pourra les retrouver facilement dans d'autres régions.

Leur rôle est immense dans l'histoire de l'évolution du squelette. Ce sont assurément eux qui, concurremment avec les ostéoblastes, donnent la forme anatomique générale de l'os et qui contribuent à modeler ce dernier, à tous les temps de la *croissance,* suivant les lois de la statique. Assurément les ostéoclastes et les cellules géantes de la moelle osseuse, que nous avons décrits plus haut, ne sont qu'un seul et même élément.

3° Rapports de l'os chondral et de l'os périostal. Partout où ces deux sortes d'os sont en contact (aux diaphyses des os longs, par exemple), il y a constamment une *limite* bien nette, et accusée, sous forme d'une ligne claire, dans les coupes.

Dans beaucoup d'os, la résorption à la surface va si profond, qu'elle met *à nu* l'os chondral, et fait disparaître toute la couche d'os périostal. C'est le cas pour la partie médiane de

la côte, chez l'embryon humain ou le chat nouveau-né; le tibia, le péroné, le radius et le cubitus présentent des faits analogues. — A l'avant-bras, on voit même que les *tractions* exercées par la musculature et le ligament inter-osseux ne doivent pas être étrangères aux changements importants de forme, qui surviennent dans l'os, avec le progrès de l'âge.

4° Fibres de Sharpey. Ainsi que nous l'avons déjà dit, ces fibres ne se retrouvent que dans l'os d'origine connective directe.

Les coupes transversales de la *calotte crânienne* adulte, chez l'homme, et de la partie supérieure du *fémur*, chez la grenouille, font bien voir ces tractus de nature élastique.

Chez l'homme, on peut, en quelque sorte, isoler ces fibres en *dilacérant* une coupe d'os décalcifié, qui en renferme, comme précisément la calotte crânienne; les fibres, arrachées violemment se *brisent* ainsi, à des longueurs inégales.

Nous avons trouvé que le traitement par le *nitrate d'argent* dilué, de coupes bien décalcifiées d'os crânien, montées au baume, après un bon lavage, fournit des *images négatives* magnifiques; on voit, dans ce cas, les fibres se détacher avec vigueur, *en clair sur champ foncé* (images négatives).

5° Insertions tendineuses. A quelques endroits, les tendons se continuent dans la substance osseuse, sans transition, par l'intermédiaire du périoste; les cellules à crêtes se *transforment directement* en cellules osseuses et l'on saisit, au milieu de l'os lui-même, les traces de l'organisation du tissu tendineux. Les os des pattes des vieux oiseaux (vieux coqs) sont bien appropriés à ce genre d'étude.

VII. Etude pratique de la moelle osseuse.

Il faudra d'abord examiner de la *moelle fraîche*. Pour se procurer ce tissu, on fendra, dans le sens de la longueur, — avec un ciseau et un maillet, ou avec une scie, — la diaphyse fémorale, de l'homme, ou d'un gros animal, encore jeune.

a. On dissociera, dans de l'eau salée, les fragments de ce tissu ; de préférence, les parties contenant de la moelle rouge, qui est moins chargée de graisse.

On verra facilement : les *capillaires sanguins*, avec leurs globules rouges, qui flotteront en grand nombre ; les *cellules adipeuses,* en partie crevées et ayant épanché leur contenu graisseux, sous forme de *gouttes libres ;* le *réticule propre ;* et, enfin, les *cellules géantes*, d'ailleurs plus difficiles à retrouver.

b. Ensuite, on passera à l'application méthodique des réactifs : *picro-carmin, acide acétique,* isolés ou combinés ; ainsi que des réactifs fixants. De la sorte, on arrivera à exécuter des préparations définitives.

c. La *fixation préalable* de petits fragments, par l'alcool au tiers, la solution de Müller, l'acide osmique, etc., donne de très bons résultats.

d. L'étude de la moelle, dans des *coupes topographiques,* intéressant aussi l'os, ne devra pas être négligée.

VIII. Etude du périoste.

On aura des occasions nombreuses d'en poursuivre l'étude, en même temps que celle des coupes topographiques d'os décalcifié et de pièces concernant la genèse de l'os.

Il faut, dans toutes ces études, prendre des os d'animaux jeunes et d'animaux vieux : dans les premiers, on verra mieux la genèse osseuse dans toute son activité ; dans les seconds, on constatera l'absence de signes de prolifération dans les cartilages. Ceux-ci confineront à l'os et aux excavations de la moelle, sans aucune transition, et surtout sans intercalation d'un cartilage sérié quelconque.

IX. Etude pratique de l'ossification.

Nous recommandons, outre l'examen des pièces ci-dessus, de faire, avec un scalpel fort (pas avec le rasoir qui s'ébrècherait trop facilement !), des coupes dans des *tissus frais* (côtes), au

niveau de la ligne d'ossification ; de les étudier dans l'eau salée ; d'en fixer et colorer au picro-carmin concentré ; enfin, d'en traiter, colorées ou non, à l'acide acétique.

Le *traitement au pinceau,* permet d'éloigner toute la moelle osseuse et donne aussi des résultats très instructifs.

Une fois fixées par l'acide acétique, ou le picro-carmin, ces préparations pourront être montées d'une façon variée et conservées en préparation durable, à la glycérine ou au baume.

X. Etude pratique des tissus dentaires.

Sauf l'émail, les tissus qui constituent les dents doivent être considérés comme étant des représentants, plus ou moins transformés, du tissu osseux. Selon notre opinion, la dentine est un représentant très ancien d'un tissu osseux inférieur, d'origine dermale.

Le cément est un tissu osseux plus parfait, mais non havérien, à l'état normal, chez l'homme.

Les mêmes méthodes que ci-dessus, telles que : coupes à la meule, décalcifications, etc., sont applicables à l'étude de ces tissus.

Par leur application, on verra la *dentine,* avec ses canalicules particuliers, remplis par les *fibres de Tomes,* qui ne sont rien d'autres que les prolongements des cellules *odontoblastes,* analogues aux ostéoblastes ; dans le *cément,* on aura des *corpuscules* ramifiés, semblables à ceux de l'os.

VII. — LES TISSUS MUSCULAIRES

Ils jouent un rôle capital dans les manifestations physiologiques de la *contractilité* et de la *motilité*. Ils arrivent à leur plus grand degré de perfection dans les êtres placés au haut de l'échelle animale.

L'élément musculaire contractile doit être considéré comme étant toujours une cellule, spécialisée dans le sens de la motilité parfaite.

I. — Structure histologique.

Elle est très différente suivant la fonction physiologique que le muscle est destiné à accomplir.

Mais, malgré la diversité des formes réalisées, toutes les formes de muscles sont constituées par les éléments suivants :

a. Eléments contractiles (cellules, fibres, etc.).

b. Tissu conjonctif de support (périmysium, endomysium).

c. Vaisseaux sanguins et *lymphatiques*.

d. Nefs moteurs, avec *terminaisons* spéciales et nerfs trophiques.

Chez l'homme, on peut distinguer, grosso modo, trois formes de muscles :

a. lisses (blancs, à contraction lente et involontaire, de la vie organique, etc.) ;

b. striés (rouges, à contraction rapide et volontaire, de la vie animale, etc.) ;

c. cardiaques (à contraction rapide et involontaire, intermédiaires).

Passons-les en revue rapidement.

a. MUSCLES LISSES. On les retrouve essentiellement dans les organes dérivés de la couche profonde du mésoderme, tels que : la vessie, le tube intestinal, les appareils uro-génital et circulatoire, etc. ; ainsi que dans la musculature des animaux inférieurs.

Leur élément fondamental contractile est la *fibre-cellule* (fibre lisse), de forme allongée, en fuseau, avec un seul noyau et un protoplasme mal différencié. Les cellules contractiles lisses sont plus ou moins allongées, suivant les cas, et présentent parfois des extrémités *ramifiées*.

Rarement isolées, elles sont en général placées par *faisceaux* réguliers ; une trame de *tissu connectif,* très riche en *fibres élastiques*, les relie ensemble.

Chaque faisceau a sa *circulation* propre.

On peut, en outre, aussi trouver dans ces organes des fibres lisses *isolées;* en ce cas, elles sont, dans la pratique, quelquefois très difficiles à distinguer d'autres éléments fusiformes : de certaines cellules connectives, par exemple.

Les *nerfs* donnent lieu, dans les muscles lisses, à de petits rameaux qui viennent des cellules ganglionnaires, nerveuses, phériphériques, spéciales, etc. qui se subdivisent et qui vont se terminer par de petits renflements ou *boutons* spéciaux, qu'on a cru, pendant un certain temps, pénétrer dans le noyau de chaque fibre-cellule. Maintenant, il est démontré qu'ils restent extérieurs à la fibre lisse. Parfois, sur leur trajet, comme dans l'intestin et les glandes salivaires, il y a de véritables petits *ganglions nerveux* susceptibles de devenir visibles à l'œil nu (comme le ganglion de la sous-maxillaire, par exemple).

b. MUSCLES STRIÉS. Ils constituent la plus grande masse de la musculature des animaux supérieurs.

Leur élément histologique fondamental est la *fibre musculaire striée*.

Cet élément, dont la constitution varie un peu, doit être considéré, dans son principe, comme étant une cellule polynucléaire, à protoplasma transformé.

On distingue dans chaque fibre :

a. un *protoplasma* (ou *myolemme*) très différencié dans sa zone cytoplasmique; et présentant une double striation, transversale et longitudinale, mal différenciée, par contre, dans sa zone endoplasmique;

b. des *noyaux* en grand nombre ;

c. une *gaine* particulière (ou sarcolemme), entourant tout l'élément.

Le *protoplasme*, à l'exception d'une petite portion entourant chaque noyau, est *strié* dans ses deux directions, comme nous venons de dire ; il se laisse facilement *diviser, cliver* dans les deux sens de la striation, en donnant naissance aux *disques* de Bowman et aux *fibrilles musculaires*. La striation *varie* d'ailleurs sensiblement d'aspect, suivant que la fibre est *contractée* ou *relâchée*.

Les *noyaux* sont ovalaires, allongés, nettement délimités ; ils présentent, dans les muscles en voie de développement, des figures de la caryocinèse. Ils sont tantôt appliqués immédiatement sous la gaine, tantôt plongés dans l'épaisseur de la fibre. Dans ce dernier cas, celle-ci est subdivisée en *faisceaux*, formés par l'accolement de paquets de *fibrillaires secondaires*.

La *gaine du sarcolemme* constitue une membrane d'enveloppe très mince, vitreuse, transparente, homogène et très résistante.

Les fibres striées sont *très longues ;* dans certains petits muscles, une seule et même fibre peut aller d'une insertion à l'autre.

Immédiatement contre les tendons d'insertion, comme dans

l'épaisseur du muscle lui-même, les fibres se terminent à leur extrémité par une petite expansion connective, vrai *tendon microscopique*. Les *rapports* du tissu connectif et du sarcolemme, au niveau de l'insertion, sont loin d'être encore complètement éclaircis. Toutefois, dans des préparations bien faites, on voit que la gaine du sarcolemme se prolonge d'une façon ininterrompue et vient s'interposer, entre les fibrilles connectives et les fibrilles musculaires.

Les fibres musculaires sont reliées les unes aux autres : dans l'intérieur du muscle, par une *trame connective* générale, qui forme ce qu'on appelle l'*endomysium* (improprement appelé périmysium interne); et, autour du muscle dans son ensemble, par une gaine d'enveloppe nommée, *périmysium*. Ce tissu conjonctif divise chaque muscle en un certain nombre de *loges*, plus ou moins compliquées et très variables d'un muscle à l'autre. Construit sur le type du tissu conjonctif lâche, l'endomysium renferme, dans quelques cas, des cellules adipeuses (sujets gras, langue, etc.).

Les *vaisseaux* et les *nerfs* pénètrent ensemble dans le muscle, le long des cloisons endomysiales; puis, après avoir rampé côte à côte pendant un certain temps, ils se *subdivisent* et se distribuent, dans chaque faisceau de fibres musculaires, pour aller enfin aboutir autour des fibres musculaires elles-mêmes.

Les fibres nerveuses, originaires du système nerveux central, sont composées de tubes à myéline qui se subdivisent, tout près de leur extrémité terminale, pour donner lieu aux *bouquets de Wagner*. Les rameaux qui en résultent, vont se mettre en rapport intime de contact avec les fibres musculaires; ils se terminent dans l'épaisseur même du sarcolemme, en formant des *arborisations,* souvent parsemées de *boutons,* après s'être généralement subdivisés à nouveau et après avoir perdu leur myéline, à leur entrée dans la fibre, immédiatement avant leur passage au travers de la gaine du sarcolemme.

Les tendons des muscles possèdent aussi diverses sortes de terminaisons nerveuses.

Les *vaisseaux sanguins* donnent lieu à des capillaires très ténus, dessinant des mailles allongées et orientées toujours ré-

gulièrement, suivant la direction des fibres striées. Les veinules qui s'en dégagent ont des sortes de *dilatations ampullaires,* qui ne paraissent pas d'ailleurs constantes.

Quant aux *lymphatiques,* ils forment d'abord des *lacunes* dans le tissu conjonctif; puis ils constituent de *vrais vaisseaux,* marchant côte à côte avec les vaisseaux sanguins.

Ajoutons, pour terminer, que, dans certains muscles, comme dans le génioglosse de la langue de la grenouille, on peut trouver des *fibres striées ramifiées.*

c. Muscles cardiaques. Ils sont composés de fibres *striées bifurquées* et assemblées de manière à former des *réseaux continus et anastomosés.* Chaque segment ramifié renferme des noyaux, entourés d'une petite quantité de protoplasma non différencié et parfois *pigmenté* en brun. Le reste du protoplasme (partie exoplasmique) possède une *striation* tout à fait analogue à celle des autres muscles striés.

On discute encore pour savoir s'il y a un vrai *sarcolemme;* dans tous les cas, s'il existe, il est excessivement mince.

Les fibres en réseaux forment des faisceaux, qui se groupent et se superposent en plans réguliers et de façon à entrecroiser, toujours plus ou moins à angle droit, la direction principale des fibres d'un plan avec celle des deux plans voisins.

Quant au *tissu connectif,* il est représenté en petite quantité, surtout dans l'épaisseur du muscle; il dessine des loges à direction variable, orientées dans le sens des faisceaux et des plans superposés, que nous venons de signaler.

Les *vaisseaux sanguins* sont très abondants, ainsi que les *lymphatiques.* On a comparé très justement le cœur à une vraie *éponge* lymphatique.

Les *nerfs* ont des dispositions très analogues à celles des autres muscles striés. — Le muscle cardiaque renferme, dans son épaisseur, des ganglions nerveux macroscopiques et microscopiques nombreux, formés par des cellules nerveuses spéciales.

Toutes les espèces de muscles sont susceptibles de *régénération.* La réparation d'une plaie a lieu le plus souvent par l'intermé-

diaire d'une *cicatrice fibreuse,* résultant de la contraction tonique qui empêche le rapprochement des parties; toutefois, si, à l'exemple des chirurgiens modernes, on fait des *sutures musculaires profondes,* affrontant et rapprochant exactement les deux bouts du muscle, il est possible d'éviter la formation d'une cicatrice et d'assister à une régénération satisfaisante des fibres musculaires, par voie de prolifération, aux dépens des fibres déjà existantes.

Pathologiquement, les muscles donnent lieu aux *myomes* (rhabdo-myomes et leio-myomes).

II. — Etude pratique des tissus musculaires.

En profitant adroitement de l'expérience acquise par l'étude des tissus précédents, il sera facile d'examiner d'une manière satisfaisante les différentes variétés de tissu musculaire.

1° Etude des muscles lisses.

C'est la plus difficile à conduire, à cause de la petitesse des éléments et de la difficulté qu'il y a à les isoler :

a. Dilacération. On peut la tenter sur un organe très riche en fibres lisses : la vessie d'un gros animal, du bœuf, par exemple. On n'arrivera qu'avec peine à un résultat satisfaisant. Aussi, la méthode suivante est-elle bien préférable.

b. Macération et dissociation. L'immersion, pendant plusieurs heures, dans de l'*alcool au tiers,* dans un *acide* dilué (l'acide nitrique à 6 ou 7 %), ou dans un *alcali* (la potasse ou la soude caustiques concentrées), favorise énormément la séparation des éléments.

Pour bien réussir, on enlèvera d'abord, par une dissection sommaire, la muqueuse et la séreuse de la vessie; une fois la macération obtenue, on choisira un faisceau musculaire plutôt de gros calibre; on en coupera un fragment d'environ un demi-centimètre de long, qu'il faudra dissocier soigneusement dans

une goutte de glycérine, en resubdivisant chaque fois les fragments séparés, dans le sens de la longueur. De cette manière, un certain nombre de fibres flotteront isolées dans le liquide; on pourra, sans autre, les observer avec de forts grossissements.

On peut aussi essayer la coloration au moyen du carmin. A cet effet, il faudra immerger les morceaux, pendant 24 heures, dans du *carmin neutre* ou du *picro-carmin* dilués, non sans avoir eu bien soin d'opérer un *relavage* prolongé à l'eau ordinaire, afin d'éloigner l'excès d'acide, car, sans cette précaution, le carmin précipiterait sous forme granuleuse.

De cette façon, les *noyaux* apparaîtront avec netteté, mais un peu gonflés par l'action de l'acide. Ils ont en réalité une forme allongée *en bâtonnet*. Quant au *tissu élastique,* il aura résisté; on le verra sous forme de réseaux très délicats.

On peut aussi dissocier dans de la glycérine picro-carminée et attendre quelques jours.

c. Coupes. Prises dans l'intestin, la vessie ou l'estomac, elles donnent une très bonne idée de l'agencement intime du *tissu conjonctif,* par rapport aux fibres musculaires.

On étudiera attentivement les coupes transversales de ces dernières, qui peuvent être facilement confondues, dans les organes, avec des sections transversales des nerfs.

En effet, la coupe des fibres musculaires lisses, avec leur noyau, ressemble beaucoup, au premier abord, à celle des fibres à myéline, avec leur cylindre-axe; la gaine connective du faisceau musculaire rappelle vaguement le tissu engainant des nerfs. Seulement, à un examen plus précis, on voit que chaque section de fibre musculaire ne *possède pas nécessairement* un noyau, attendu que la coupe peut tomber dans une autre région; tandis, qu'au contraire, la présence du cylindre-axe est constante, celui-ci étant continu dans la fibre nerveuse. En outre, cela va sans dire, la gaine connective nerveuse est plus parfaite d'organisation que la gaine musculaire.

Dans les coupes de faisceaux musculaires de gros organes, il

est possible de distinguer, par places, des cellules nerveuses constituant de vrais ganglions périphériques, qui appartiennent en propre à la musculature lisse. Ainsi : entre les deux plans musculaires de l'intestin grêle, ou de l'estomac.

Les coupes de *pièces injectées* sont aussi très instructives.

d. Méthode d'extension. Elle consiste à *étaler* proprement des fragments d'*organes membraneux*, renfermant des muscles lisses, en nappe; la vessie de petits animaux se prête particulièrement bien à ce genre de recherches.

On disséquera soigneusement la vessie d'une grenouille, d'un lapin ou d'un rat; après l'avoir fendue convenablement avec les ciseaux fins, on l'étalera sur l'ouverture d'un godet, ou avec les anneaux tendeurs (fig. 114 et 115); puis on lui fera subir les réactions appropriées : fixation par l'alcool, coloration par le picro-carmin, etc. On en fera des préparations définitives dans différents milieux; la glycérine acide convient particulièrement bien.

Il va sans dire qu'on aura eu soin, au préalable, de racler et d'enlever la muqueuse, qui ne pourrait que nuire à une bonne observation; le mieux sera de faire cette petite opération au dernier moment, juste avant de monter la préparation.

e. Insufflation. Un autre procédé, également pratique, consiste à *gonfler d'air* l'organe, à le suspendre à l'air libre, puis à le laisser *sécher*. On détaillera ensuite en fragments, que l'on montera comme ci-dessus, avec ou sans coloration, avec ou sans traitement préalable à l'acide.

f. Injection. Par ces diverses méthodes, on se rendra facilement compte de la *marche* et de l'*entrecroisement des faisceaux musculaires*. Nous conseillons de faire de semblables préparations sur des pièces *injectées;* elles donnent en même temps une bonne idée de la vascularisation.

g. Muscles érecteurs. Dans les coupes de peau, et surtout du cuir chevelu, il est possible de saisir les muscles érecteurs des poils, sous forme de petits faisceaux, constitués par l'accolement

de quelques fibres lisses, faisceaux marchant obliquement de la partie profonde du follicule, vers la surface de la peau.

2° Etude pratique des muscles striés.

Elle est, en somme, plus facile que la précédente :

1° **Dissociations.** Elles devront porter sur les objets suivants :

A. Muscles frais. Pris de suite sur un animal qu'on vient de sacrifier, ils seront encore *vivants;* ce qui ne manque pas d'intérêt.

a. On dissociera dans une goutte d'eau salée ; puis on observera, après avoir fait un cadre à la paraffine.

De cette manière, on aura une vue d'ensemble assez satisfaisante. Il sera facile de voir, sans autre : les fibres, avec leurs *striations* transversale et longitudinale ; le *tissu connectif;* et, même parfois, dans quelques cas favorables, les *vaisseaux sanguins* et les *nerfs.*

Pour bien réussir, il faut dissocier méthodiquement, en séparant toujours les éléments, dans le sens de leur longueur.

b. Si l'on veut apercevoir la gaine du *sarcolemme,* il suffit d'exercer, au dernier moment, une pression légère, avec une aiguille à dissocier, tenue horizontalement. Ainsi, l'on arrive à sectionner, à écarter la substance contractile ; la gaine, plus résistante, persistera entre les deux fragments protoplasmiques, sous forme d'une *membrane* fine, hyaline, vitreuse, transparente et tout à fait dépourvue de noyaux propres.

c. Les préparations, prises à un animal fraîchement sacrifié, permettent quelquefois d'observer directement, sous le microscope, la *contraction* des fibres.

d. Après cette première série d'observations, il faudra faire passer un petit courant d'*acide acétique.*

Les *noyaux* cellulaires et les réseaux élastiques du tissu *conjonctif,* ainsi que ceux des fibres musculaires, jusqu'alors peu

visibles, deviendront très apparents. On se convaincra que ces derniers n'occupent pas toujours la même place : dans les fibres ordinaires, — celles de l'homme par exemple, — ils sont appliqués immédiatement *sous la gaine* du sacolemme ; dans d'autres fibres, — comme dans celles de la grenouille, — ils sont plus nombreux et placés *dans l'épaisseur* de la substance contractile, qui est divisée en faisceaux secondaires.

e. En chassant le liquide acidulé par un peu de glycérine, on arrivera à faire des *préparations définitives*.

f. Dans d'autres dissociations semblables, — de préférence sur des muscles qui ont séjourné après la mort, qui sont devenus rigides, qui se sont un peu macérés et qui, par conséquent, sont plus facile à séparer, — il faudra faire intervenir le *picro-carmin*, sur le porte-objet même, ou, mieux encore, colorer dans un verre de montre.

g. On pourra aussi traiter ensuite, avec avantage, par l'acide acétique, pour mieux localiser la coloration sur les noyaux. Ce dernier réactif rend les *terminaisons nerveuses* apparentes. Il faudra s'exercer, à retrouver ces derniers éléments, en faisant, avec attention et avec persistance, un examen fibres après fibres.

B. Muscles fixés. On pourra employer, comme *réactif coagulant :* l'alcool, la solution de Müller, l'acide nitrique, l'acide osmique, l'acide picrique, la solution de Kleinenberg, etc.

La dissociation des pièces ainsi traitées démontrera la *subdivision* des fibres en fibrilles, dans le sens de la striation longitudinale. Avec les pièces fixées, on obtiendra facilement des préparations durables, colorées et incolores, montées au baume du Canada et à la glycérine.

C. Muscles traités par des acides. Les acides chlorhydrique, nitrique, etc. *dilués*, sont très appropriés, pour obtenir la subdivision des fibres, en *disques* de Bowmann, dans le sens de la striation transversale. On dissociera, à cet effet, dans de la glycérine, des muscles macérés « en bloc » dans un acide dilué. Si la macéra-

tion a été assez intense, on peu agiter dans une éprouvette, laisser déposer, décanter, ajouter de la glycérine et monter ensuite en préparation définitive.

D. MACÉRATION A L'ALCOOL AU TIERS. Ce réactif pourra, s'il est bien appliqué, fournir de beaux résultats.

E. DIGESTIONS ARTIFICIELLES. Faites au moyen de la *trypsine,* ou de la *pepsine,* elles favorisent bien l'analyse de la constitution intime de la substance contractile.

2° **Coupes.** Elles sont indispensables à qui veut se rendre un compte exact de la *topographie* du muscle. Elles devront surtout être pratiquées dans le *sens transversal,* par rapport à la direction des fibres. Les bonnes coupes longitudinales sont, d'ailleurs, beaucoup plus difficiles à obtenir. Il sera bon d'étudier, par ce procédé, des pièces *injectées;* la langue constitue un objet tout particulièrement approprié pour ce dernier genre de préparations. Pour faciliter la confection des coupes, on a imaginé différentes méthodes :

a. La plus ancienne consiste à prendre un petit muscle et à le *sécher,* en le suspendant à l'air libre. On fait ensuite, avec un scalpel bien tranchant, des sections minces, qu'on *ramollit* dans une goutte d'eau et qu'on traite de différentes manières.

Cette méthode, qui au premier abord paraît un peu grossière, donne d'assez bons résultats.

b. Ou bien, on opérera sur des *muscles fixés* par l'alcool, l'acide chromique, la solution de Müller, etc. Si le muscle n'est pas de structure compacte, les coupes obtenues se fragmentent facilement.

c. Pour bien maintenir les parties en place, on pourra faire, préalablement, une *imprégnation* à l'albumine ou à la celloïdine.

Par ces différents procédés, on obtiendra des préparations qui démontrent bien les *rapports* avec le tissu conjonctif et les vaisseaux.

3° **Extension.** Elle contribue à donner une bonne idée topographique des muscles.

a. Chez les petits animaux (grenouille, rat, etc.), certains muscles membraneux sont répandus en *nappe mince* et vont se terminer dans les aponévroses, qui leur font suite. On peut utiliser cette disposition pour faire aussi par voie de demi-dissociation, des préparations, qui démontreront l'*insertion* des fibres musculaires sur le tissu conjonctif.

b. Le muscle mylo-hyoïdien de la grenouille, ceux de la paroi abdominale, montés *in toto*, sont aussi très commodes. Après les avoir disséqués, on les étalera sur un porte-objet; puis on les traitera par les réactifs appropriés : *acide acétique, picro-carmin*, etc.

c. Disons aussi que ces mêmes muscles, pris chez des batraciens et traités par le *nitrate d'argent*, font voir parfois les revêtements endothéliaux en rapport avec les sacs lymphatiques.

d. Une préparation très élégante des fibres à myéline qui sillonnent les muscles s'obtient en faisant intervenir l'acide osmique; ou, mieux encore, en traitant, d'après la méthode de Nussbaum : d'abord par l'acide acétique, puis ensuite par l'acide osmique. Les muscles de la paroi abdominale des batraciens, traités suivant ce dernier procédé, montrent admirablement les anastomoses récurrentes des fibres, qui semblent être constantes dans tous les muscles striés.

e. Le traitement par la méthode au chromate d'argent est très instructif et permet de saisir bien des détails sur la terminaison des nerfs dans les muscles.

4° **Fibres ramifiées.** Elles se voient bien sur des coupes transversales ordinaires de la *langue de la grenouille*, dans l'extrémité terminale linguale des fibres du génio-glosse.

3° Etude des muscles cardiaques.

a. Elle se fera tout à fait par les mêmes procédés que ceux applicables aux muscles striés. Il est donc inutile d'y revenir en

détail. On pourra facilement constater la disposition en *réseaux,* formés par l'assemblage et la soudure de *segments musculaires ramifiés* et porteurs de *noyaux.*

b. Le traitement par la *soude* ou la *potasse* caustiques donne de très beaux résultats, pour l'isolation des éléments.

c. Si on a un cœur de veau ou de mouton à sa disposition, on en profitera pour rechercher les fibres de Purkinje.

On circonscrira, par une incision quadrangulaire, une partie de l'endocarde, au niveau du septum cardiaque ; on étalera le morceau ainsi obtenu, pour l'examiner frais, en l'orientant, la face profonde tournée contre l'œil de l'observateur et en le mettant à l'eau salée titrée. Après l'avoir observé dans ce milieu, on lui fera subir l'action méthodique des réactifs.

VIII. — LES TISSUS NERVEUX

L'étude des tissus nerveux repose, avant tout, sur la connaissance exacte de la cellule nerveuse. Il est assez malaisé de poursuivre cette étude, sans faire, en même temps, plus ou moins celle du système nerveux.

Les notions que nous possédons sur les tissus nerveux ont progressé d'une façon très notable dans ces dernières années, surtout grâce à l'introduction des nouvelles méthodes techniques d'étude et à une meilleure compréhension du mode de genèse primordiale de ce tissu. Il résulte des travaux récents, que l'ancien schéma de la marche des voies nerveuses, tel que l'avaient édifié à grand peine les Max Schultze et les Gerlach, doit être profondément modifié.

Au lieu d'admettre des anastomoses de cellules créant des sortes de chaînes cellulaires ininterrompues, on arrive maintenant à l'idée nette de l'indépendance anatomique et physiologique des éléments nerveux : au lieu d'une *conduction directe* de l'influx nerveux, il y aurait, semble-t-il, plutôt des phénomènes *d'induction,* à courte distance et par l'intermédiaire des prolongements très finement ramifiés des cellules nerveuses. arrivant au contact les uns des autres, ou, tout au moins, par l'intermédiaire d'accolements de ces prolongements, avec le corps cellulaire des éléments voisins.

Au point de vue fonctionnel, il n'y a dans le tissu nerveux, — comme d'ailleurs dans les autres tissus, — qu'un seul élément : *la cellule nerveuse*, dont les corps agglomérés forment les centres gris, et dont une partie des prolongements constituent la substance blanche et les nerfs ; ces deux derniers n'ayant ainsi que la valeur de conducteurs de l'influx nerveux. Le reste — cellules de soutè-

nement, tissu conjonctif, etc., — nous apparaît comme une série d'adjuvants, destinés tout au plus à exalter la fonction, mais non à la produire.

C'est ce qui ressort nettement des travaux récents de Golgi, de Cajal, de Retzius, de Lenhossek, de Kölliker et de tant d'autres.

A. Données théoriques sur les tissus nerveux.

Dans notre étude pratique du tissu nerveux, nous prendrons séparément :

a. Les *nerfs*.

b. La *substance nerveuse* des grands centres et des gros ganglions.

c. Quelques types de *terminaisons nerveuses*.

I. — Nerfs.

Ils jouent essentiellement le rôle de *conducteurs*, servant à mettre en communication les différentes parties du système nerveux central, avec les différentes régions de l'économie et à tenir ces dernières plus ou moins sous la direction du système nerveux central.

Les nerfs sont composés :

a. D'une *gaine connective* vasculaire, que nous avons étudiée précédemment, à propos du tissu connectif engaînant (p. 208) et qui constitue : à la surface du nerf, une enveloppe générale, le *périnèvre;* et, dans la profondeur, des cloisons subdivisant le nerf en faisceaux, l'*endonèvre*.

b. De *tubes nerveux* ou *fibres nerveuses,* dont la structure varie beaucoup.

a. Fibres de Remak *(sans myéline, à simple contour)*. Elles se présentent sous forme de *lanières* et de *plexus* minces, à structure relativement simple, parsemées de *noyaux*. Elles consti-

tuent en entier certains nerfs sensoriaux : l'olfactif, l'optique, par exemple. Parfois elles forment des *plexus*, qu'il n'est pas toujours facile, à un premier examen, de débrouiller et de distinguer nettement du tissu conjonctif de support des nerfs.

b. Tubes a myéline *(à double contour)*. Ils ont une structure beaucoup plus compliquée que les précédents. On les retrouve surtout chez les animaux supérieurs qui ont atteint l'âge adulte ; ils font complètement défaut chez les organismes d'ordre inférieur, ainsi que chez les embryons et la plupart des fœtus des êtres supérieurs.

Ils doivent être assurément considérés comme un *perfectionnement* du tube nerveux primitif, dont ils dérivent d'ailleurs directement. Leur diamètre est très variable : quelques histologistes, sans raisons bien valables, ont supposé que les gros tubes sont moteurs.

Chaque fibre à myéline présente à considérer les parties constitutives suivantes :

Un *cylindre-axe,* prolongement direct de la cellule nerveuse, sous forme d'une fibre continue, dans laquelle jusqu'à présent, à part une fibrillation longitudinale, souvent difficile à déceler, il n'a pas été possible de distinguer sûrement une structure particulière.

Une *gaine* complexe, qui se subdivise en segments spéciaux, *segments inter-annulaires,* ayant, pour chaque espèce de nerf, une longueur et une structure déterminées. Les segments sont limités à chaque extrémité et, par conséquent, séparés les uns des autres, par un étranglement de la fibre *(étranglement annulaire*, dit improprement de Ranvier, puisque Stilling, le père, l'avait déjà signalé et dessiné antérieurement).

Chaque segment inter-annulaire possède un *noyau,* qui lui appartient en propre et qui occupe la partie médiane du segment, immédiatement sous la couche la plus externe de la gaine.

La plus grande partie de cette dernière est occupée par une substance particulière : la *myéline*. Cette substance, qui se rapproche des corps gras par ses propriétés générales, constitue

la plus grande partie de l'enveloppe du tube nerveux; elle est subdivisée en plusieurs segments secondaires *(segments cylindro-coniques),* séparés les uns des autres par des sortes de cloisons, en forme d'entonnoir *(incisures de Schmidt* ou *de Lantermann, lépidosties).*

Autour du noyau propre, il y a un peu de protoplasme non différencié et, à ce niveau, la myéline du segment inter-annulaire est amincie et refoulée en demi-lune.

Extérieurement, la myéline est entourée d'une gaine continue, hyaline et transparente *(gaine de Schwann),* s'insérant avec régularité aux étranglements annulaires.

En dedans, entre la myéline et le cylindre-axe, se trouve une mince couche de substance *(gaine du cylindre-axe, ou de Mauthner),* de laquelle partent les lépidosties, pour aller rejoindre la gaine de Schwann. Les recherches modernes ont démontré, au niveau de ces diverses gaines, l'existence de matières kératiniques; ce qui ferait penser, avec raison, que, non seulement le cylindre-axe, mais aussi les gaines sont d'origine épithéliale octodermique (para-épithéliale). Dans quelques cas spéciaux, le tube nerveux possède, en outre, une enveloppe générale, de nature connective *(gaine de Henle),* qui doit être considérée comme une continuation de la gaine générale du nerf ou périnèvre. On constate la présence de cette enveloppe, surtout dans les nerfs déjà ramifiés en branches fines.

Chez les jeunes animaux, les fibres à myéline ont souvent une forme en chapelet: ce sont les *fibres variqueuses,* ou *moniliformes.*

Certains nerfs de l'économie renferment exclusivement des tubes nerveux à myéline; d'autres sont *mixtes,* c'est-à-dire formés, à la fois, de fibres avec et sans myéline.

Il est à noter que, sur le trajet des nerfs proprement dits, les tubes nerveux marchent sans se diviser; la division n'a lieu, dans la règle, que vers la périphérie. A l'occasion d'expériences particulières, nous avons, avec mon collègue, M. J.-L. Prevost, dissocié en entier les principaux troncs nerveux d'une centaine d'animaux (chats, rats, cobayes, grenouilles, etc.); nous n'avons

trouvé de subdivisions, sur le trajet même du nerf, qu'une seule fois, et encore douteuse.

Arrivés à la périphérie, dans les muscles par exemple, les fibres nerveuses à myéline se subdivisent tantôt *dichotomiquement*, tantôt d'une manière *plus compliquée (bouquets de Wagner)*; lorsqu'elles atteignent tout à fait la périphérie de l'organisme, les fibres nerveuses perdent leur myéline, pour donner lieu à des *cylindres-axes nus*.

Par leur extrémité centrale, les tubes nerveux se mettent en relation avec les cellules nerveuses; dans l'état actuel de nos connaissances, le cylindre-axe doit être considéré comme une *expansion directe* du protoplasme des cellules nerveuses, centrales ou périphériques, suivant qu'elles sont d'ordre moteur, trophique ou sensitif.

Ranvier a voulu considérer chaque segment inter-annulaire comme étant une *cellule adipeuse transformée*, qui viendrait s'ajouter au cylindre-axe, pour lui constituer une sorte de gaine isolante; nous venons de dire que les découvertes modernes, qui ont fait reconnaître l'existence de la kératine dans les segments intercellulaires, ne sont pas favorables à cette conception ingénieuse.

Les nerfs, avec leur enveloppe de tissu engainant, constituent une *unité anatomique spéciale* dans l'organisme. Ils reçoivent des *vaisseaux propres*, qui se distribuent exclusivement dans leur intérieur; de telle sorte que, le plus souvent, les nerfs peuvent traverser une région étendue de l'économie, pour se rendre plus loin, sans avoir nécessairement des connections nutritives avec la dite région. Il en résulte que, de la sorte, la région peut être affectée pathologiquement, sans que les nerfs, qui la traversent dans toute sa longueur, soient le moins du monde atteints et vice versa.

c. Fibrilles nerveuses. Elles sont très abondantes dans la substance grise du système nerveux central, ainsi que dans les organes périphériques sensoriaux, comme expansions directes du protoplasma cellulaire nerveux. On les retrouve également à la

périphérie, comme divisions ultimes du cylindre-axe ; dans ce dernier cas, elles forment des plexus, parfois très abondants et souvent très compliqués. Ces fibrilles, toujours difficiles à observer, sont très fines et très délicates; elles demandent des méthodes spéciales, pour être mises en évidence. Dans le système nerveux central, elles concourent, pour une grande part, à la formation de la névroglie.

II. — Système nerveux central.

Sa structure des plus complexes, au point de vue topographique, résultat du groupement des éléments conjonctifs suivants :

1) *Cellules nerveuses,* para-épithéliales d'origine, avec leurs diverses expansions.

2) *Cellules névrogliques,* également de provenance para-épithéliale; mais plus ou moins transformées, plus ou moins kératinisées.

3) *Cellules connectives.*

4) *Substance fondamentale connective.*

5) *Vaisseaux sanguins* et *lymphatiques.*

1° Cellules nerveuses. Leurs formes et leurs aspects sont très variables. Elles sont : arrondies et sans prolongements *(apolaires)* ; avec un prolongement *(unipolaires)*; avec deux prolongements *(bipolaires)* ; avec plusieurs prolongements *(multipolaires) simples* ou, le plus généralement, *ramifiées,* d'une façon plus ou moins compliquée, ainsi que cela résulte des belles recherches de Golgi, Ramon Cajal, Retzius et de tant d'autres.

Certaines cellules ganglionnaires sont pourvues d'une *enveloppe* plus ou moins compliquée, et même, parfois, de nature cellulaire. Le protoplasme et les prolongements des gros éléments présentent souvent une *striation fibrillaire* très apparente, qui a déjà été signalée par Max Schultze. Quelques-uns renferment du *pigment.* Le volume des cellules nerveuses varie beaucoup.

Les cellules nerveuses forment, par association, des groupes plus ou moins compliqués.

2°, 3° et 4° Tissus de support. Le système nerveux central, comme les nerfs, possède incontestablement une trame connective, sous forme de *loges,* subdivisées parfois en loges secondaires; c'est le cas pour la moelle épinière. Outre cette substance connective, — parfaitement caractérisée, porteuse de vaisseaux sanguins et lymphatiques et qui a pénétré, à un moment de la période de développement, dans le système nerveux primitif, — il s'en trouve une autre, de structure plus délicate et formée essentiellement par des cellules kératinisées : la *névroglie.*

Cette dernière a été considérée, tour à tour, et d'une façon beaucoup trop exclusive, comme étant nerveuse, ou connective. Il est admis actuellement comme démontré, qu'il s'agit là des cellules épithéliales, lesquelles, au lieu de subir l'évolution nerveuse, se sont transformées en kératine, pour jouer le rôle de cellules de support. Partout, dans le système nerveux central, comme périphérique, on retrouve ces *cellules de soutènement, tectrices,* etc.

Outre ces tissus de support, bien caractérisés, il y a aussi, dans la *névroglie,* de nombreuses ramifications subdivisées des cellules nerveuses propres. On admet, maintenant, que les prolongements, venant de deux cellules nerveuses distinctes, ne s'anastomosent jamais ensemble, mais ne font que s'accoler.

5° Circulation sanguine et lymphatique. L'irrigation sanguine se fait d'une manière très parfaite, dans les grands centres nerveux.

Les vaisseaux capillaires, très abondants, sont entourés d'une *gaine périvasculaire lymphatique,* facile à voir. Cette disposition est destinée à parer aux inconvénients de la congestion sanguine passagère; surtout dans les parties nerveuses, renfermées dans des cavités osseuses rigides : comme l'encéphale dans la boîte crânienne.

Autour des grands centres nerveux (encéphale, moelle), il y a les espaces arachnoïdiens, dessinés par du tissu conjonctif rétiforme, en plans superposés (voir *Tissu rétiforme* p. 208).

III. Terminaisons nerveuses.

Quoiqu'elles semblent, au premier abord, très différentes les unes des autres, il est cependant possible de les ramener à un certain nombre de types assez simples. Les terminaisons *centrales*, moins bien connues, jusqu'à ces derniers temps, que les *périphériques*, ont été précisées par les travaux remarquables, datant surtout de ces cinq dernières années. Le mot de *terminaison* est plutôt malheureux: car si les fibres nerveuses motrices vont bien aboutir, *se terminer*, au niveau des cellules musculaires périphériques, par contre les filets sensitifs *prennent leur origine* à la périphérie, pour se rendre, ensuite, dans les centres nerveux. Ceci est corroboré par la façon dont se développent et se régénèrent ces deux ordres de fibres.

Nous devons donc distinguer deux ordres principaux de terminaisons : *centrifuges* et *centripètes :*

a. Terminaisons centrifuges. Elles ont lieu dans les muscles, les glandes, les chromoblastes, etc. A mesure que l'on progresse dans l'étude histologique, on en découvre toujours de nouvelles.

Dans les terminaisons aboutissant au niveau de beaucoup de cellules épithéliales, il n'est pas toujours facile, dans l'état actuel de la science, de préciser si l'on est en présence d'une terminaison nerveuse centrifuge, ou centripète. Cela tient à l'ignorance dans laquelle on se trouve, au point de vue de la fonction physiologique accomplie par ces éléments.

Les terminaisons centrifuges se font au moyen de prolongements cellulaires nerveux plus ou moins ramifiés, parfois légèrement renflés en boutons, à leurs extrémités, et venant se mettre *en contact* intime avec les éléments périphériques qu'ils commandent. Nous avons déjà traité, à propos du tissu musculaire, des terminaisons motrices spéciales qu'il présente. (v. p. 264).

Dans les glandes, il y a : des ramifications *épilemmales,* se répandant en dehors de la basale épithéliale; et des arborisations *hypolemmales,* qui entrent au contact des cellules sécrétantes, et s'étendent, sur leur surface, sans pénétrer dans leur intérieur.

Il est fort possible qu'il y ait des terminaisons spéciales de *nerfs trophiques* dans les tissus, qui présideraient à la nutrition des éléments, sous la direction du système nerveux.

b. Terminaisons centripètes. Pour les terminaisons centripètes, il y a des dispositifs cellulaires, qui rappellent ceux des terminaisons centrifuges. Le principe reste le même : la cellule nerveuse, quelle que soit sa position dans le système nerveux, se met en relation de contact, par des arborisations terminales, avec les cellules de la périphérie, d'origine épithéliale, ou même d'origine connective, suivant les cas.

Il faut distinguer :

1) Des *terminaisons inter-épithéliales : a.* soit généralisées, comme celles qui président au tact et ses variétés ; *b.* soit localisées dans des organes distincts, comme dans ceux des sens spéciaux, tels que l'odorat, le goût, la vue et l'ouïe.

2) Des *terminaisons inter-connectives,* comme les corpuscules de Meissner, de Grandry, de Paccini, les masses terminales, etc.

B. Etude pratique des tissus nerveux.

I. — Etude des nerfs.

La première chose à faire sera d'isoler ces organes, par un travail de dissection. On prendra de préférence : *a.* pour les *nerfs à myéline,* le sciatique de l'homme, du lapin, ou du rat, les paires lombaires des mêmes animaux ou de la grenouille ; *b.* pour les *nerfs à fibres de Remak,* le nerf optique, l'olfactif, etc. Les faisceaux du tronc sciatique, du reste, renferment les deux ordres de fibres, séparément ou ensemble, dans le même faisceau.

Méthodes d'examen. Elles sont relativement simples :

1° Dissociations. Il faudra choisir les nerfs d'un animal, dont le tissu conjonctif n'est pas trop développé (grenouille, rat); il y

a, en effet, de grandes différences d'une espèce à l'autre. Chez le chien, par exemple, les gaines connectives, très développées, sont, pour ainsi dire, indissociables.

a. On commencera par un simple examen à l'*eau salée*, en dessinant constamment ce qu'on voit ; il faudra dissocier de très petites portions à la fois.

Les principaux détails seront ainsi facilement saisissables. On verra bien : les tubes avec et sans myéline ; et, par-ci par-là, sillonnant la préparation, un capillaire sanguin, reconnaissable à sa paroi caractéristique et à son contenu, plus ou moins bien conservé.

Bientôt, sous l'influence de l'eau, la myéline commencera à *gonfler* et à *foisonner*, en produisant des bosselures arrondies, comme filamenteuses, et qui font hernie, partout où la gaine de Schwann a été rompue. Dans les tubes mêmes, elle ne tarde pas à prendre un aspect *froncé*, caractéristique.

Un examen attentif permettra de retrouver avec netteté les étranglements annulaires, ainsi que les noyaux de chaque segment inter-annulaire de la gaine de Henle et du tissu connectif. Il faudra s'attacher à bien distinguer ces diverses formations les unes des autres.

Avant de s'altérer, la myéline s'accuse par un *double contour ;* au premier moment, les lépidosties sont aussi parfois très visibles, de même que le cylindre-axe. Ce dernier, dans les tubes qui ont été déchirés par les aiguilles à dissocier, peut être dénudé sur une longue étendue ; on profitera de ces endroits pour voir le cylindre-axe isolé.

b. Ensuite, une *dissociation* dans du *picro-carmin concentré* complètera ces premières notions. Par ce réactif, la myéline se colore en jaune, le cylindre-axe et les noyaux prennent une teinte rose.

c. L'addition de *glycérine* simple, picro-carminée ou acide, pourra conduire à la confection d'une *préparation définitive*.

Les détails fins de la gaine sont difficilement appréciables dans les dissociations précédentes.

d. Il faudra recourir à l'action de l'*acide osmique*, qu'on pourra faire intervenir, *avant* ou *immédiatement après* la dissociation :

Dans le second cas, on dissociera rapidement dans une goutte d'eau pure ; puis on versera un peu d'acide osmique, à la place de l'eau.

Dans le premier cas, on aura un meilleur résultat, par la fixation *in toto* du nerf, avec l'acide osmique. Pour obtenir une bonne fixation, on maintiendra la pièce *en extension* : en la liant par les deux bouts, sur une petite baguette de verre, ou en la suspendant librement, dans le réactif, avec un poids en verre à l'extrémité. La solution appliquée doit être très diluée ; sans cela, elle pénètre avec difficulté jusqu'au centre de la pièce, qui reste incolore, tandis que les bords prennent une vilaine teinte noire, qui empêche toute action ultérieure d'autres réactifs.

Il ne faut pas oublier que l'acide osmique est *dangereux pour les yeux !* C'est pour cela que nous ne donnons pas volontiers le conseil de dissocier directement dans ce liquide, comme quelques histologistes le font, trop à la légère.

e. Après *fixation* par l'acide osmique, la coloration (au *picro-carmin* concentré ou à la glycérine picro-carminée) peut donner aussi de très brillants résultats. On ne manquera pas de la tenter.

Quand l'action de l'acide a été trop énergique, la coloration ne prend plus bien ; un relavage prolongé à l'eau pure la fait réussir encore, dans quelques cas. Sinon, il faudra y renoncer et recommencer complètement l'expérience, avec des pièces nouvelles.

Les préparations, traitées par l'acide osmique et les colorants appropriés, démontreront particulièrement bien : les étranglements annulaires, les incisures de Lantermann, les segments cylindro-coniques. Par la coloration, le cylindre-axe et les noyaux deviendront très apparents. Si l'on a bien réussi dans l'application des réactifs, la myéline, devenue solide par l'acide osmique, aura une teinte *noir foncé*. Sous l'influence du picro-carmin, les *fibres de Remak* prennent une couleur orangée caractéristique ; leurs noyaux, placés à des intervalles réguliers, sont rouges.

f. Quand on choisit un animal en voie de développement, on trouve des *fibres variqueuses*.

2° Coupes. Elles sont indispensables pour compléter les notions acquises par les procédés sus-décrits :

a. Il faudra surtout faire des *sections transversales*, après fixation par l'acide osmique ou l'acide chromique dilués ; avec et sans coloration ; au baume et à la glycérine. L'imprégnation à l'albumine, à la celloïdine ou à la paraffine facilite beaucoup la confection des coupes, qui doivent être très minces, pour être vraiment démonstratives.

b. Outre l'étude topographique du tissu engainant, dont il a été parlé plus haut, à propos du tissu conjonctif (p. 208), on s'attachera aussi à pratiquer l'examen des sections de fibres nerveuses ; l'image varie sensiblement, suivant la hauteur à laquelle elles tombent et la qualité des fibres coupées. Pour les fibres à myéline, on remarquera et l'on dessinera spécialement les images fournies par des sections au niveau des étranglements inter-annulaires, du noyau, des lépidosties et des segments cylindro-coniques. Il faudra aussi prendre en considération les fibres pâles, ou de Remak.

c. Les vaisseaux sanguins sont aussi très intéressants.

3° Préparations injectées. *a*. En *deshydratant* des portions entières de nerf et en les montant au baume, on verra avec facilité, après compression légère, la marche des vaisseaux sanguins.

b. Des coupes transversales de gros nerfs injectés sont aussi très instructives : elles font voir que les gros troncs nerveux ont une circulation sanguine, encore assez abondante.

4° Imprégnation au nitrate d'argent. *a*. La dissociation d'un bout de nerf bien frais, dans du nitrate d'argent dilué, le relavage à l'eau pure et le montage à la glycérine donnent des préparations curieuses : le réactif s'insinue par les étranglements annulaires jusque sur le cylindre-axe et, en s'y déposant, donne lieu à des images curieuses, sous forme de *croix latines*.

b. L'imprégnation *in toto* de fragments de petits nerfs démontre bien l'existence des endothéliums de la gaine.

5° Digestions artificielles. Par l'application méthodique de sucs digestifs, on arrivera à révéler certains détails, comme la gaine kératinique.

II. — Etude du tissu nerveux central et des ganglions.

Elle est nécessairement très complexe ; car il y a de grandes variations suivant les régions.

1° Préparations fraiches. Elles sont très instructives :

a. On pourra se contenter d'*écraser*, entre la lame et la lamelle, dans un peu d'*eau salée*, ou de sérum (naturel ou artificiel), de petits fragments de substance, grise ou blanche, prise dans différents endroits. L'addition d'*acide acétique* fait apparaître, pour quelques instants et d'une façon fugace, un grand nombre de détails. Dans certains *examens sommaires*, cette méthode est parfaitement suffisante. En procédant de cette manière, on pourra voir *grosso modo* les tubes nerveux et les éléments cellulaires.

b. Au lieu d'eau salée, on pourra, à une préparation fraîche nouvellement dissociée, ajouter du picro-carmin ; alors, on aura le bénéfice de la coloration et, jusqu'à un certain point, de la fixation des éléments cellulaires.

L'addition d'un peu de glycérine permet de conserver la préparation ainsi fixée et colorée.

c. Les préparations à l'alcool au tiers sont aussi très instructives ; elles rendent facile la dissociation.

d. L'acide osmique agit aussi comme un bon réactif coagulant ; malheureusement il est peu pénétrant. Il permet, après dissociation, la confection de bonnes préparations définitives. Si l'on fait, ensuite, passer un courant d'eau pour opérer un relavage, il

sera possible de faire pénétrer sous le cover, un peu de glycérine picro-carminée, qui amènera, à la longue, une belle coloration des noyaux des capillaires sanguins et des cellules nerveuses.

2° Coupes d'objets fixés. Les meilleurs réactifs sont : les sels de chrome et l'acide chromique, ainsi que l'acide osmique ; dans quelques cas, l'alcool n'est pas trop mauvais. La coloration doit avoir lieu, plutôt, par la *méthode lente.*

Dans des préparations semblables, surtout de pièces *injectées,* on verra bien les espaces péri-vasculaires de His.

3° Injection interstitielle. Elle peut être d'un grand secours, surtout si l'on emploie de l'acide osmique dilué. C'est par ce procédé qu'on étudiera le mieux la *névroglie.*

4° Méthode de Golgi et de Ramon Cajal. Cette méthode, qui a fourni récemment de si beaux résultats, consiste, dans son principe, à imprégner les éléments avec du chromate d'argent.

Une foule de formules, toutes plus variées les unes que les autres, ont été proposées.

D'après Ramon Cajal, il faut durcir la pièce, pendant 3 jours, dans un mélange bicromico-osmique de :

Bichromate de potasse à 3 % . . . . 20 parties,
Acide osmique à 1 % . . . . 5 à 6 parties,

puis l'immerger, pendant 36 heures, dans une solution de nitrate d'argent de 5 à 7 ‰ ; ensuite de nouveau, durant quelques heures, dans le même mélange bichromico-osmique, qui a déjà servi et qui, par conséquent, s'est affaibli. On fait un bon relavage à l'eau distillée, et l'on remet encore 36-48 heures dans le nitrate d'argent. Ce n'est que par l'expérience, qu'on arrivera à régler le temps nécessaire de la seconde immersion, pour obtenir une bonne imprégnation.

On a proposé de remplacer l'acide osmique par la formaline ; ce procédé paraît, en effet, avoir de l'avantage, dans beaucoup de cas.

Les pièces qui, — il ne faut pas l'oublier, — ne sont pas d'une

stabilité très parfaite, sont ensuite coupées et, après deshydratation, montées au baume du Canada; *mais sans les recouvrir d'une lamelle.*

Par ce procédé, on obtient, sans l'influence réductrice de la lumière, des images noires en silhouette, très démonstratives, des cellules nerveuses et de leurs ramifications; et d'autant plus intéressantes à observer, que l'imprégnation ne se fixe pas indistinctement sur tous les éléments nerveux, mais fait élection, en quelque sorte, sur un petit nombre d'entr'eux, tout en laissant parfaitement intacts les autres éléments similaires.

5° Méthode au bleu de méthylène. Le bleu de méthylène constitue un réactif très précieux, qui peut, dans un grand nombre de cas, remplacer avec avantage l'imprégnation au nitrate d'argent, tout en donnant des résultats aussi démonstratifs.

On peut, avec ce réactif, qui doit être d'une grande pureté et de bonne provenance, *colorer en masse:* soit des organismes vivants *in toto,* soit des fragments, ou des coupes d'organisme très frais.

Si les animaux sont très petits, on les met directement dans le liquide, additionné de la solution du colorant; s'ils sont plus volumineux, il faut recourir à une injection par voie interstitielle ou sanguine, durant la vie de l'animal, ou après sa mort. C'est Ehrlich, qui, le premier, a introduit le principe de la « coloration vitale » des organismes.

Les conducteurs nerveux, tels que le cylindre-axe, se teintent merveilleusement avec le bleu de méthylène, qui se fixe : d'abord sur les nerfs sensitifs; ensuite, plus tardivement, sur les nerfs moteurs.

Les solutions de bleu de méthylène se font habituellement dans de l'eau salée, à 7,5 ‰.

La pratique a démontré qu'il vaut mieux employer des solutions très faibles, qui donnent une meilleure différenciation. Les premières solutions appliquées étaient à $^1/_{300}$ ou à $^1/_{400}$; actuellement on les prend plutôt à 1 millième, à 1 dix millième et, même jusqu'à 1 cent millième.

L'ammoniaque a une bonne influence sur la fixation et la

localisation de la coloration ; on peut l'employer comme liquide de lavage.

Meyer propose de monter les pièces dans le composé suivant :

Gomme arabique	50	grammes.
Sucre de canne	50	»
Eau distillée	50	»

Quel que soit le procédé appliqué, la conservation laisse encore beaucoup à désirer ; mais l'application du bleu de méthylène, comme moyen d'investigation extemporannée, est inappréciable et constitue une précieuse acquisition pour la technique histologique, non seulement des centres nerveux, mais aussi d'autres régions de l'économie.

III. — Etude des terminaisons nerveuses.

Nous avons déjà parlé précédemment des terminaisons dans les muscles (v. p. 262 et 264).

Dans les *muscles striés,* elles sont faciles à mettre en évidence par le traitement à l'*acide acétique*, suivant la méthode de Kühne.

a. L'imprégnation au chlorure d'or, malheureusement très inconstante, donne aussi de bons résultats, quand elle réussit. De petits fragments de muscles sont plongés, durant quelques minutes, dans un jus de citron fraîchement exprimé et filtré. Quand ils sont devenus transparents, on les met, pendant un quart d'heure, dans une solution diluée de chlorure d'or, non sans les avoir relavés à l'eau pure. Ensuite, après un second relavage, on les met dans de l'eau aiguisée d'un peu d'acide acétique ; puis on abandonne à une vive lumière, pendant un ou deux jours. Pour terminer, on monte les éléments dissociés, dans de la glycérine acide.

b. On pourra également, si on le désire, faire des préparations de *rétine,* fixées et traitées par l'alcool, ou mieux par l'acide osmique ou la solution de Müller.

On obtiendra ainsi, avec une netteté plus ou moins grande, les

éléments nerveux périphériques, particulièrement les bâtonnets de Jacob.

c. Enfin, il sera intéressant de rechercher occasionnellement, les *corpuscules de Paccini*, dans un mésentère de chat, les *corpuscules de Grandry*, dans le bec du canard. Fixés d'abord par l'acide osmique, puis traités par le carmin à l'alun, ils donnent des préparations très démonstratives, surtout quand on les monte au baume du Canada.

d. Montés à la glycérine, sans coloration carminée, ils donnent aussi des préparations très satisfaisantes.

e. Des coupes topographiques de peau de la pulpe des doigts, bien préparées, démontrent les corpuscules du tact (de *Meissner* ou de *Krause*).

CONCLUSION

Avec l'étude du tissu nerveux, nous sommes arrivés au terme de nos indications techniques concernant la cellule et les tissus (Histologie générale).

Nous osons espérer que l'élève, en possession de bonnes méthodes de travail, pourra maintenant aborder, sans difficulté, des recherches plus compliquées, et qu'il pourra se livrer, avec fruit, à l'étude de l'histologie spéciale. L'examen des organes et des systèmes se fera toujours, en s'inspirant des mêmes méthodes d'examen : examen frais ou après fixation ; avec ou sans le concours de la dissociation, des coupes, des colorations simples ou doubles, des injections, etc., etc.

Comme nous n'avons pas eu la prétention d'écrire un traité complet d'histologie expérimentale ; nous nous arrêterons donc là, heureux si nous avons réussi à inspirer à l'étudiant quelque goût pour les recherches microscopiques ! Nous n'ignorons pas que nous sommes loin d'avoir épuisé la matière, même dans le champ restreint de l' « histologie générale » ; il restera donc à l'étudiant, chercheur et désireux de se perfectionner, bien des méthodes à connaître et à pratiquer, bien des notions à acquérir.

Nous estimons, qu'ainsi préparé, le jeune histologiste saura dorénavant trouver, lui-même et avec facilité, dans des traités plus étendus ou dans les mémoires originaux, les indications qui lui seront nécessaires.

Avant de terminer cet ouvrage, nous donnerons, dans une dernière et septième partie, des indications sommaires, concernant les principales *méthodes embryologiques*.

SEPTIÈME PARTIE

APPENDICE

DES PRINCIPALES MÉTHODES EMPLOYÉES EN EMBRYOLOGIE

A mesure que la science biologique progresse, on arrive toujours plus à la conviction qu'il ne sera possible d'arriver, une fois, à se faire une raison vraiment logique des grands processus vitaux, qu'en tenant largement compte des enseignements de l'embryogénie.

Le point de vue génétique domine tout dans la science moderne. Aussi, d'année en année, les études embryologiques deviennent-elles de plus en plus indispensables.

En Suisse, l'étude de cette branche est devenue obligatoire, pour les étudiants en médecine. A Genève, ces derniers ont à leur disposition un laboratoire particulier parfaitement outillé, spécialement aménagé et dans lequel ils peuvent étudier pratiquement, non seulement l'embryologie humaine, mais aussi l'embryogénie comparée, toutes deux dans leur acceptation la plus large.

A chaque instant, le jeune histologiste est appelé à chercher la solution des problèmes qui l'embarrassent, dans l'étude méthodique de préparations macroscopiques et microscopiques d'embryons. De là, la nécessité inéluctable de savoir se procurer, élaborer et examiner un semblable matériel.

Nous pensons donc qu'il n'est pas superflu de donner ici, dans un chapitre spécial, des indications sommaires, absolument indispensables et destinées à servir d'introduction à la technique embryologique proprement dite.

I. — Récolte des matériaux embryologiques.

Dans le Laboratoire d'embryologie de Genève, dirigé par nous, il nous a été possible, — non sans peine et après beaucoup d'efforts, — de créer toute une série de services spéciaux, qui nous procurent d'une façon régulière et continue les matériaux embryologiques nécessaires ; de provenance humaine aussi bien qu'animale, terrestre aussi bien qu'aquatique.

Le chercheur isolé, et qui ne se trouve pas à portée d'une semblable institution, devra s'ingénier à récolter lui-même ce qu'il lui faut, en tachant de profiter au mieux des circonstances locales, parfois très favorables, dans lesquelles il pourrait se trouver.

On ne peut évidemment pas tracer ici des règles précises et prévoyant chaque cas spécial ; mais il est néanmoins possible de donner quelques indications sommaires et générales, capables de faciliter beaucoup le néophyte.

Il est bon d'aller à la chasse des animaux se reproduisant *à l'état de nature*. Une grande dose de sagacité et de patience sont souvent nécessaires : pour arriver à connaître exactement les habitudes et les mœurs intimes, souvent fort curieuses, de certains animaux ; pour savoir les saisons favorables et les conditions naturelles de leur propagation et de leur développement. Des investigations de ce genre sont parfois très pénibles ; mais elles sont loin d'être inutiles au biologiste qui aime vraiment la science. Il faudra donc faire une étude toute spéciale de la contrée qu'on habitera ; visiter les forêts, les champs, les rochers, les berges des cours d'eau, les côtes des lacs ou de la mer ; et apprendre à connaître leur faune et leur flore particulières. La récompense pour tant d'efforts ne se fera pas longtemps attendre : tout un monde nouveau se révèlera, alors, au jeune observateur, étonné et émerveillé.

D'ailleurs, certains animaux s'habituent assez facilement à la *captivité,* ou au moins à une *demi-captivité.* D'autres, par contre, semblent rebelles à tout emprisonnement.

Des cages de formes variées, de petits viviers, des aquariums seront indispensables ; il faudra en varier la disposition selon la nécessité du moment. Parfois, un bocal ordinaire, avec de l'eau, quelques plantes aquatiques, etc. ; une simple boîte, en carton ou en bois, avec de la terre, du sable, du gravier, de la paille, de la mousse, du foin, des feuilles, de l'herbe, etc., seront parfaitement suffisants.

La question de la nourriture est très importante ; il faudra s'enquérir de l'alimentation, souvent très spéciale, des larves, comme de leurs producteurs, de façon à leur fournir une nourriture physiologique appropriée à leur bonne conservation et à leur évolution normale. Ceci permettra de suivre, sur le vivant, à l'œil nu ou à la loupe, dans une foule d'observations intéressantes et instructives, le développement des êtres vivants.

Avec le concours du porte-objet à chambre humide (fig. 64), on peut poursuivre commodément, au microscope et avec des grossissements relativement forts, l'observation de beaucoup d'œufs, d'embryons et de larves. L'application directe de quelques réactifs doublera de suite l'intérêt de ces observations.

Mais, le plus souvent, tout ceci n'est pas suffisant, et il faut recourir à des procédés plus parfaits, à une technique plus savante.

Quoique venue tard, dans le concert général des sciences anatomo-physiologiques, l'embryologie a ses procédés d'investigation propres, ses méthodes de travail bien à elle et que nous allons essayer de faire connaître :

II. — Récolte et préparation des œufs.

Les œufs des organismes inférieurs, de même que ceux de beaucoup d'animaux supérieurs, sont souvent faciles à récolter :

On les trouvera, par exemple, en abondance, en ouvrant directement le corps de la femelle ; on les recherchera dans les

milieux dans lesquelles la femelle est allée les pondre : dans l'eau douce ou salée, dans la vase, dans la terre, dans les excavations de rochers, dans des nids spéciaux, etc.

Les œufs des insectes et des arachnides sont souvent renfermés dans des sacs spéciaux, collés ou appendus aux arbres, aux feuilles, aux poutraisons, etc. Il suffit, dans quelques cas, de s'emparer de ces sacs et de les mettre dans une boîte en carton, pour assister bientôt à l'éclosion et aux premières transformations des larves.

Les œufs des grenouilles, des tritons et de la plupart des amphibiens, ainsi que de beaucoup de poissons, peuvent être récoltés directement dans l'eau ; ou bien sur la mère, en forçant celle-ci, par des frictions et des pressions appropriées, à pondre, au moment du rut.

Chez les sauropsidiens en général, — et notamment chez les oiseaux, comme la poule domestique, — il est facile de recueillir des œufs, qu'on peut ensuite soumettre soit à l'*incubation naturelle,* en les donnant à couver à la mère, soit à l'*incubation artificielle,* en les plaçant dans une couveuse ou un thermostat *ad hoc* (fig. 87).

Pour les mammifères, l'étude des œufs, sans être impossible, devient plus difficile. On peut saisir ces derniers : dans l'ovaire, avant la ponte ; ou bien dans l'oviducte, après la ponte ; ou bien encore, dans l'utérus, après leur fixation dans cet organe. On essayera de les examiner avant ou après l'accouplement et la fécondation. Les petits rongeurs, faciles à domestiquer — comme la souris, le rat albinos, le cobaye, le lapin, etc., — sont particulièrement appropriés à ce genre de recherches.

Pour retirer les ovules de l'oviducte, chez ces animaux, ou chez d'autres analogues, il faut : sacrifier l'animal ; disséquer et isoler la trompe ; porter cet organe sur une lame de verre ; l'ouvrir avec des ciseaux fins ; et, enfin, chercher directement, à l'œil nu ou, mieux encore, à la loupe, les ovules, dans le produit de raclage. On peut aussi injecter, au moyen d'une petite seringue ou d'une pipette, des liquides indifférents (solution physiologique salée), ou fixateurs (solutions diverses), et recueillir le liquide dans des verres de montre, qu'on soumettra ensuite à l'observation, avec la loupe

ou le microscope, pour retrouver les œufs. Suivant le résultat qu'on désire obtenir, on appliquera, comme liquides fixateurs, la solution de Kleinenberg et de Müller, l'acide osmique, à 1 ou 5 ‰, le bichlorure de mercure; après relavage approprié, on fera, si cela est nécessaire, agir les colorants, l'on montera la préparation « en cellule », à la glycérine acidifiée ou non, ou bien au baume, et l'on achèvera, en traçant un cadre hermétique. Il est quelquefois très intéressant de microtomer « en série » les œufs et, même, d'en faire ensuite des reconstructions.

III. — Fécondation naturelle et artificielle.

Les œufs peuvent être récoltés, déjà *fécondés naturellement,* ou bien soumis à la *fécondation artificielle.*

Ici, quelques détails ne seront pas superflus. Il importe, en effet, de connaître souvent, avec quelque exactitude, le moment de la fécondation, pour juger ultérieurement de l'âge des embryons.

Lorsqu'on veut obtenir, à volonté, la *fécondation naturelle,* une étude, préalable et parfois toute spéciale, des mœurs génitales des animaux en observation, devient indispensable. Ainsi, par exemple : certains êtres, comme les rats albinos, — d'après les observations d'un de mes anciens assistants, M. le Dr Cristiani, — ne semblent s'accoupler d'une façon effective que la nuit, les tentatives de rapprochement durant le jour restant plus ou moins incomplètes; les cobayes femelles reçoivent à nouveau l'approche du mâle, tout de suite après qu'elles ont mis bas; les lapines paraissent souvent agir de même.

Quoi qu'il en soit, dès qu'on juge qu'un rapprochement sexuel doit être fécond, il faut isoler immédiatement et dans une cage spéciale, la femelle, pour empêcher des rapprochements ultérieurs, qui pourraient devenir une source grave d'erreurs, dans l'estimation de l'âge des embryons.

Pour beaucoup d'animaux, un seul rapprochement suffit souvent, pour féconder toute une série d'œufs ; ainsi, pour la poule,

une seule cochée permet de féconder une vingtaine d'œufs, d'après Harvey, et cinq à six seulement, d'après Coste.

Attendre la fécondation naturelle est souvent une grande complication : dans beaucoup de cas, il y a avantage à pratiquer méthodiquement la *fécondation artificielle.*

Chez beaucoup d'animaux inférieurs, marins ou d'eau douce, ainsi que chez les poissons et les batraciens, cette opération est des plus faciles à conduire ; chez les organismes supérieurs, — et même chez l'homme ! — elle n'est pas impossible non plus, et cette opération a été parfois pratiquée avec succès.

Pour tous les organismes *à fécondation externe,* qui déversent librement au dehors leurs produits sexuels, il suffit de mettre en présence des œufs et des spermatozoïdes frais, pour obtenir, pour ainsi dire à coup sûr, le résultat désiré.

La fécondation artificielle des œufs d'oursin, de grenouille et de poissons est devenue classique et d'un usage tout à fait courant dans les laboratoires.

Voici par exemple, comment on procède, pour les grenouilles et les poissons :

On prend, au printemps et au moment du rut, le frai obtenu en ouvrant, ou, plus simplement en comprimant le ventre des femelles pleines ; on place les œufs ainsi obtenus, sur le fond d'un cristallisoir ou d'une assiette plate, en les faisant adhérer au récipient.

On prend, d'autre part, un testicule, ou, mieux encore, un canal déférant du mâle ; puis l'on broie et dilue son contenu, avec un peu d'eau.

On verse le liquide ainsi préparé, sur les œufs, dont le manteau albumineux, — quand il y en a un, comme chez la grenouille, — gonfle énormément, tout en continuant à adhérer au récipient.

Au bout d'un temps variable (une ou deux heures, pour la grenouille), le premier sillon de segmentation fait son apparition : ce qui est facile à constater à la loupe, et même souvent à l'œil nu.

C'est d'une façon analogue que les pisciculteurs opèrent, tous, la fécondation artificielle, chez les poissons.

Chez les échinodermes, — et, en général, chez tous les organismes inférieurs, porteurs d'éléments sexuels mûrs, — la même opération peut être pratiquée sous le microscope. Il sera alors possible d'assister à la pénétration du spermatozoïde dans l'œuf et de suivre pas à pas les différents temps de la fécondation (H. Fol, Hertwig, Selenka, etc.).

Dans les animaux à sang chaud et *à fécondation interne,* il est nécessaire de porter le sperme du mâle, au moyen d'une seringue *ad hoc,* dans les organes génitaux de la femelle en rut.

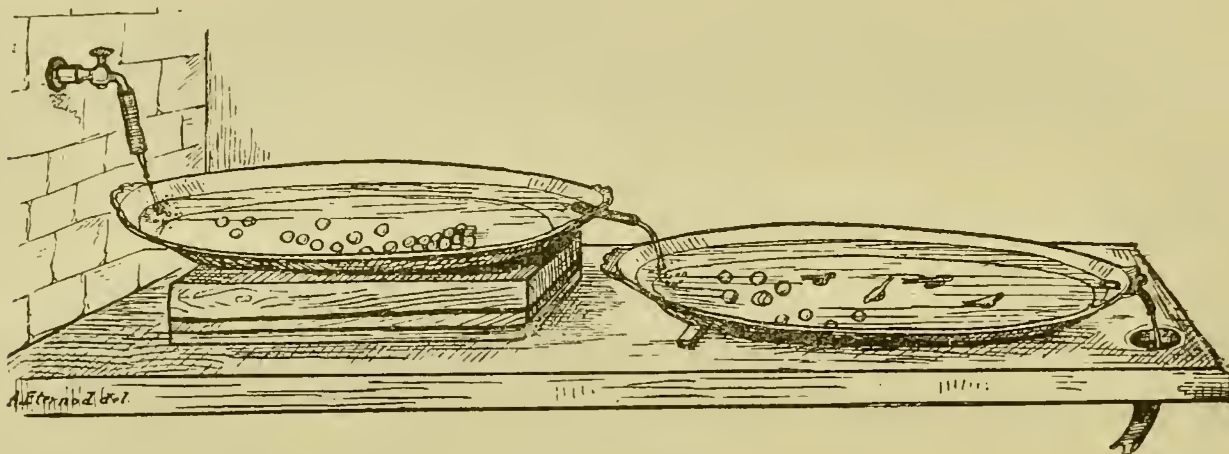


Fig. 120. PETITE PISCICULTURE DE LABORATOIRE, dont les bacs sont formés avec des lèche-frites en terre commune, accouplées. De l'auteur (d'après un de ses dessins).

Par un procédé semblable, avec quelques variantes de détail, se pratique, avec résultat positif, la fécondation artificielle chez la femme.

IV. — Etude de l'œuf fécondé.

Chez les animaux à fécondation externe, l'œuf, une fois fructifié, est mis dans un vivier, dans un bac à pisciculture, ou dans tout autre récipient approprié.

Pour les œufs de grenouille, — ainsi que des autres batraciens qui se développent dans des eaux stagnantes, — il n'y a qu'à déposer ces œufs dans un vase un peu grand, en verre, en terre ou en bois et rempli d'eau, en ayant soin de ne pas changer le liquide trop souvent. On prétend, — et nous croyons avec raison, d'après notre propre expérience, — que, dans de l'eau légèrement salée, le

développement de larves s'effectuerait mieux que dans l'eau pure et, surtout, que dans l'eau courante. Il est certain qu'à l'état naturel, beaucoup d'animaux se développent et évoluent dans des mares d'eau saumâtre, souvent de petites dimensions et dans lesquelles l'évaporation et la concentration se font sentir d'une façon marquée.

Lorsque les têtards commencent à éclore, il est bon d'ajouter

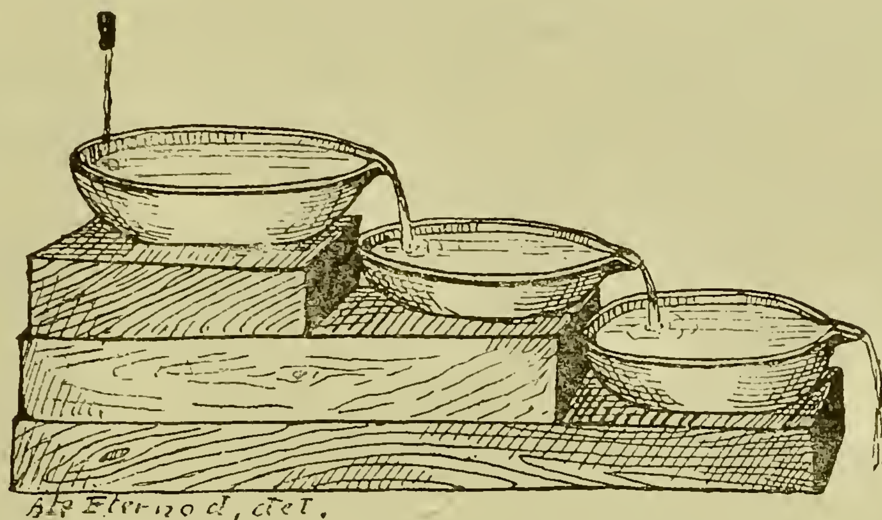


Fig. 121. Petite pisciculture de laboratoire, installée au moyen de capsules en porcelaine accouplées. De l'auteur (d'après un de ses dessins).

quelques plantes aquatiques, telles que : des anacharsis, des potamogétons, des lentilles d'eau, etc. Ces végétaux, — concurremment avec les débris d'œufs qui ont échoué dans leur développement, — servent de première nourriture aux larves, tout en pourvoyant à leur respiration, par l'oxygène qu'elles dégagent, sous l'influence des rayons lumineux. Plus tard, il devient indispensable de donner un peu de viande menuisée : du bœuf bouilli et effilé, par exemple.

Pour faire éclore et élever la plupart des poissons d'eau douce, on place les œufs dans de petits bacs, remplis d'une eau qui se renouvelle constamment. Pour obtenir une petite pisciculture de laboratoire, qui remplisse le but désiré, il suffit d'aligner quelques plats en terre à fond plat, ou bien quelques capsules, placés dans le voisinage d'un robinet d'eau courante (v. fig. 120 et fig. 121).

Suivant l'espèce de poissons mis en expérience, il faut une eau plus ou moins courante, plus ou moins agitée et plus ou moins

froide. Ainsi : les truites et les saumons, qui frayent dans les torrents glacés des Alpes, demandent une eau très battue, très agitée, très froide et voisine, si possible, de 0°.

Il est important que les bacs soient placés à une bonne lumière. Car on est exposé à voir, — malgré les précautions les plus minutieuses, — les alevins se couvrir de moisissures, qui embarrassent leurs nageoires et leurs appareils branchiaux, qui les asphyxient, qui entravent, en tous cas, gravement leur développement ultérieur et qui, même trop souvent, les font périr.

Les œufs des animaux à sang chaud, comme ceux des sauropsidiens, — de la poule par exemple, — demandent à être *couvés naturellement* ou *artificiellement*.

Si l'on est à portée d'un poulailler, on peut se borner à faire faire l'*incubation naturelle* des œufs par la mère, et à en prendre un œuf tous les jours, par exemple. De cette façon, on pourra obtenir de jolies séries graduées d'embryons ; et cela, avec d'autant plus de sûreté que la mère, avec les instincts mystérieux qui la guident, sait fort bien discerner et écarter les œufs qui sont mauvais ou mal fécondés.

L'*incubation artificielle* se fera à la couveuse, ou au thermostat (v. fig. 87). Il y a actuellement dans le commerce un grand nombre de ces appareils, tous également bons, chauffables au gaz, au pétrole, à l'eau chaude, etc.

Quel que soit l'instrument employé, il faudra observer les précautions suivantes :

1° Ne jamais permettre que la température monte *au-dessus* de 38 à 39°. L'élévation de température est beaucoup plus nuisible que son abaissement.

2° Interrompre, chaque jour, un instant, le chauffage, en ouvrant largement l'appareil, pour donner de l'air.

3° Remuer et déplacer les œufs. — Toutes ces opérations, pour imiter les manœuvres de la poule, qui quitte son nid pour manger, boire et vaquer à ses besoins, qui remue et déplace ses œufs, de façon à ramener au centre du nid, ceux qui étaient à la périphérie.

4° Entretien (au moyen d'un récipient plein d'eau, d'un linge

mouillé, ou tout autrement) du degré d'humidité nécessaire, copiant celui qui existe, toujours d'une façon constante et normale, dans le nid.

5° Le thermostat devra être, en tous cas, pourvu de trous de ventilation, pour entretenir une aération constante et suffisante; car il ne faut pas oublier que les œufs respirent.

6° Si possible, l'appareil devra livrer sa chaleur par le haut, plutôt que par le bas, et, surtout, que par les côtés. Il faut, en effet, se souvenir que la poule se couche sur ses œufs et les chauffe par le haut, et que, par conséquent, l'échauffement est inégal. Un échauffement défectueux est une cause active de monstruosité (expériences de Dareste, de Panum, et d'autres).

Lorsqu'on peut employer le gaz, il faut toujours le faire et régler le débit au moyen d'un thermo-régulateur (fig. 87, 1; 86, R et 139).

Il est bon d'écrire, directement sur chaque œuf et au crayon, le jour et la date du commencement de l'incubation artificielle. On trouve, d'ailleurs, de grandes différences dans le degré de développement des embryons, qui ont subi le même nombre d'heures d'incubation.

V. — Manière de recueillir et de préparer les embryons de poulet.

Si l'on veut saisir, chez les oiseaux, les premiers stades de la segmentation, il faut sacrifier la mère et ne pas attendre la ponte naturelle, car les premières phases de division de l'œuf ont lieu dans l'oviducte, avant la ponte.

Pour recueillir les embryons de poulets aux divers stades de développement, voici la technique que nous recommandons et que pratiquent les élèves, dans notre laboratoire :

1° On ouvre l'œuf par la grosse extrémité, c'est-à-dire du côté de la chambre à air, en piquant la coquille, avec les ciseaux ou la pince (fig. 122).

2° On découpe la coquille en spirale (fig. 123), avec des ciseaux fins, en laissant couler graduellement l'albumen, ou blanc de l'œuf, que l'on sectionne aussi, au fur et à mesure, avec les ciseaux.

3° On sectionne les chalazes, dès qu'elles se présentent à la vue. Le jaune, ou vitellus, devenu libre, flottant sur le blanc d'œuf restant, tourne sur lui-même et ne tarde pas à présenter l'embryon en haut.

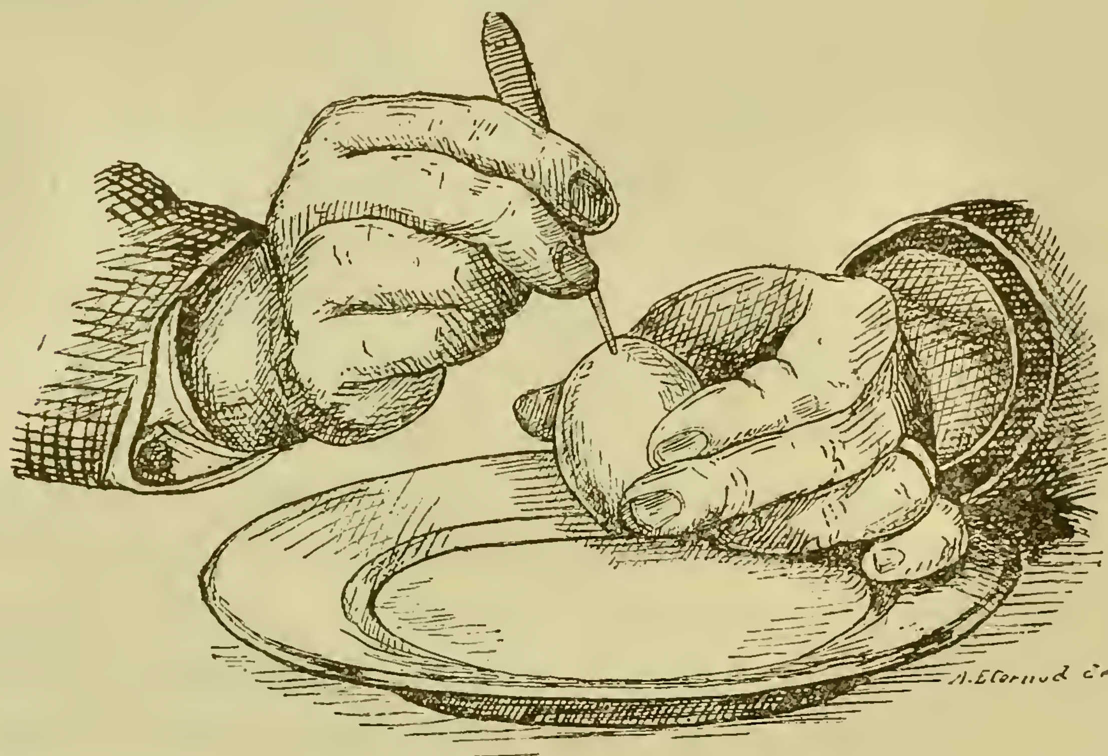


Fig. 122. Façon de piquer un œuf par la grosse extrémité, au moyen de la pince ou des ciseaux (dessin de l'auteur).

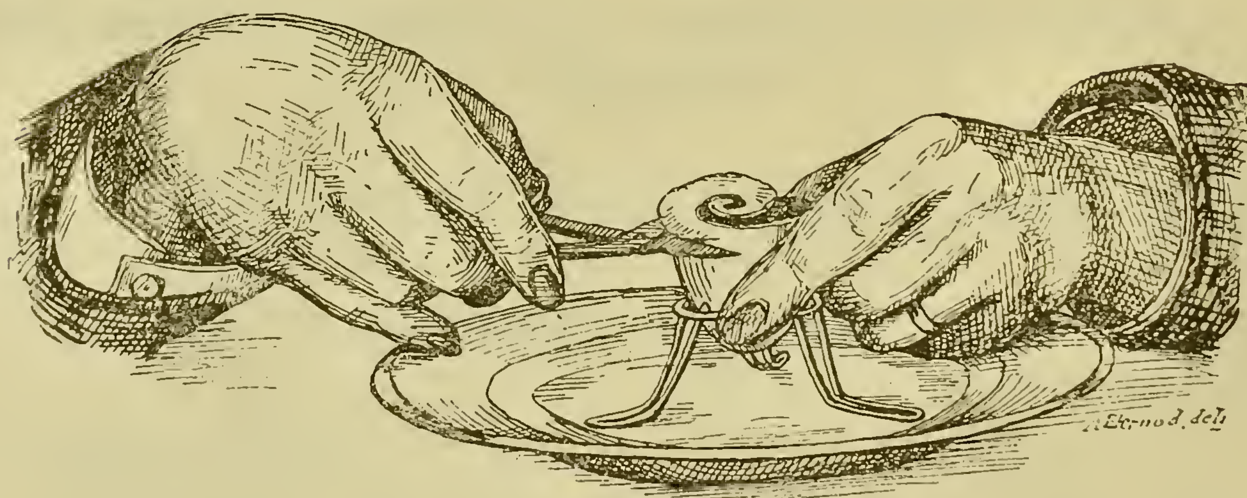


Fig. 123. Manière d'ouvrir et de couper un œuf couvé, avec les ciseaux fins (dessin de l'auteur).

4° On peut alors, si le développement est assez avancé, observer et dessiner l'embryon, et voir battre le cœur.

5° On fait ensuite tomber dessus, goutte à goutte, un peu de liquide fixateur (solution de Kleinenberg, de préférence) ; on perfore le jaune à une certaine distance de l'embryon et de l'aire

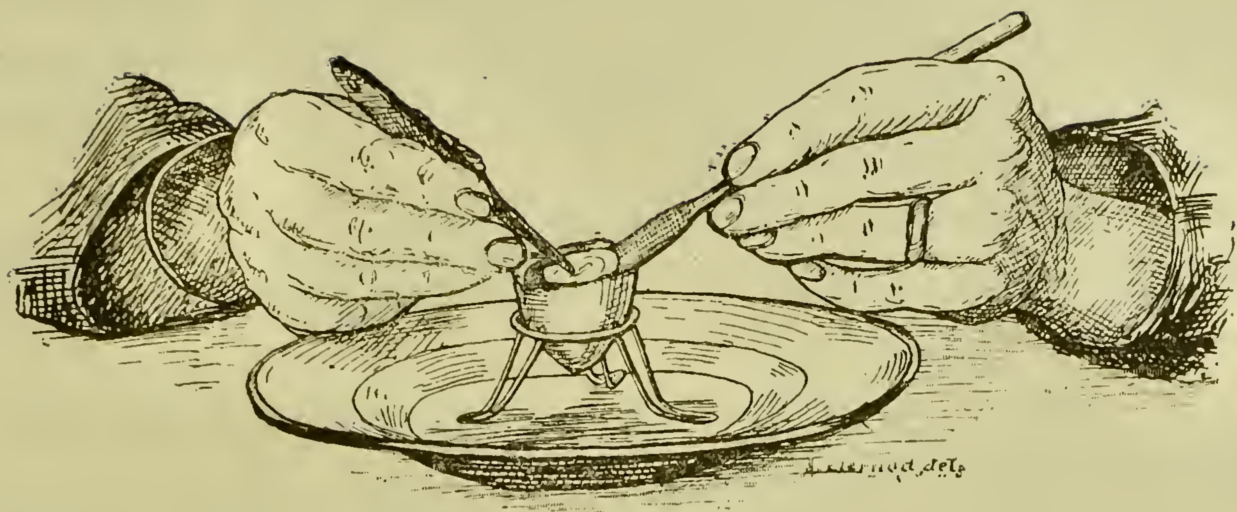


Fig. 124. Manière de recueillir le champ blastodermique dans un œuf, après fixation et au moyen de la spatule à large lame (dessin de l'auteur).



Fig. 125. Spatule a deux lames, en nickel ou en dardaine, construite par M. E. Jaccard, aide-préparateur (dessin de l'auteur).

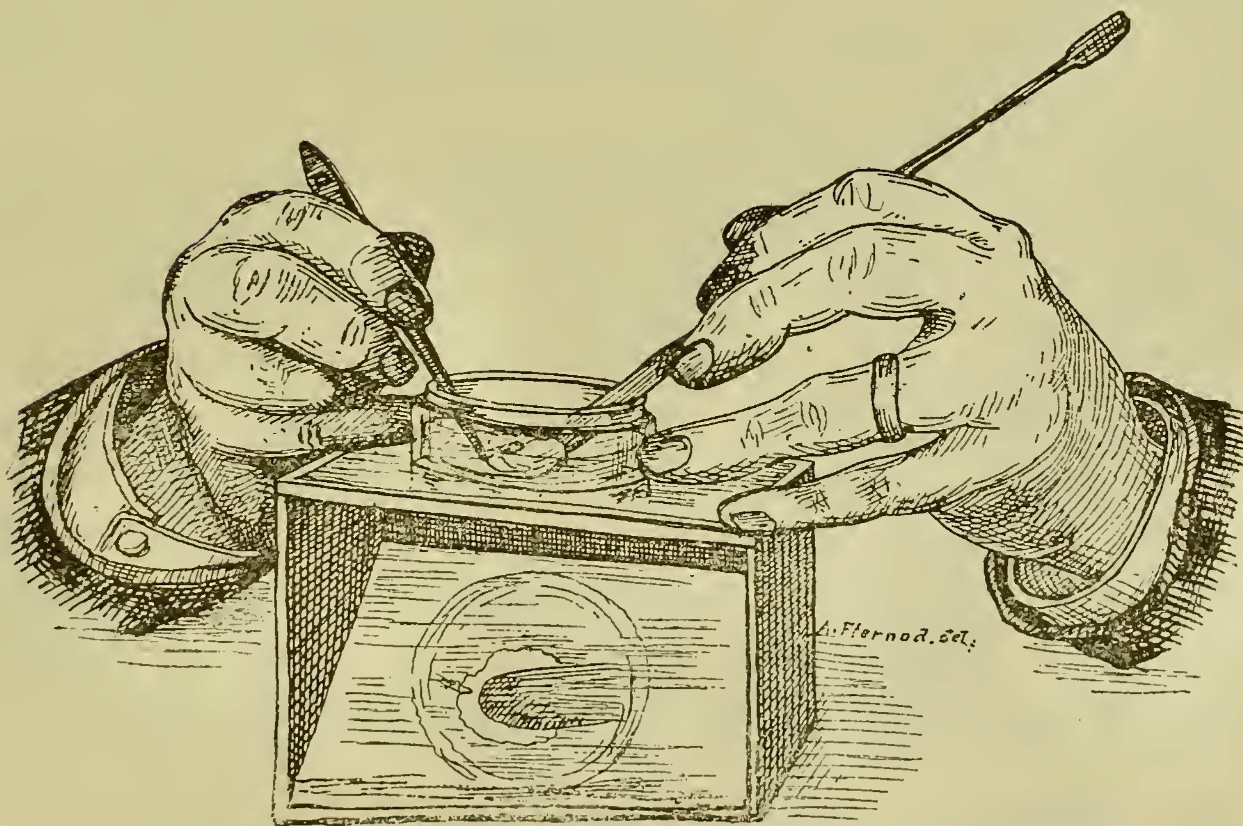


Fig. 126. Transport du champ blastodermique dans un godet, au moyen de la spatule à large lame (dessin de l'auteur).

Nota : Le godet est posé sur une caisse, avec fond en verre et miroir incliné à 45°, pour éclairer les pièces par dessous (lumière transmise). Voir un dispositif semblable à la fig. 78 : *Tournette à plusieurs fins, de l'auteur*, p. 85.

vasculaire; et l'on lance dedans, sous le champ embryonnaire, un jet de liquide fixateur, avec la pipette, ou avec une pissette.

6° On attend quelques minutes, ou plus, suivant la grosseur de l'embryon, jusqu'à ce que le réactif ait agi, en renouvelant ce dernier, si cela est nécessaire.

7° Ensuite on lance un jet d'alcool à 70°.

8° Puis, quand le champ embryonnaire est un peu durci, on le découpe avec les ciseaux fins.

9° En s'aidant de la pincette, on glisse dessous une spatule à large lame (fig. 124 et 125).

10° L'on opère le transport dans un godet de verre (fig. 126), rempli d'alcool à 70°.

Il ne faut pas s'occuper, pour l'instant, s'il est resté du vitellus collé à la pièce; celui-ci se délayera et tombera, tout seul ou par les lavages ultérieurs.

Il est commode d'employer, pour ces opérations, un support, ou trépied, en fils de métal (voir nos figures 123 et 124); à son défaut, on prend simplement un petit coquetier, pour maintenir l'œuf en bonne position. Il est plus propre et plus commode de se placer sur une assiette, pour faire ces diverses opérations et pour recueillir les produits qui s'écoulent.

L'usage d'un godet en verre transparent et du support à miroir incliné (fig. 126 et fig. 78) facilite beaucoup la manipulation des embryons dans les réactifs; surtout, si ceux-ci sont foncés.

Ensuite, une fois le relavage à l'alcool à 70° terminé et la solution de Kleinenberg bien éliminée, l'embryon peut être porté dans un réactif colorant, comme le carmin neutre, le carmin à l'alun, ou le carmin boracique à l'alcool, de façon à le colorer « en masse ». Puis on peut le deshydrater à l'alcool, le passer à l'essence et le monter dans une cellule, au baume du Canada; ou bien, si on le désire, le microtomer en coupes sériées.

VI. — Préparations d'autres larves et embryons.

Certaines larves et beaucoup d'embryons n'ont qu'à être portés, dans de l'eau salée, directement et tout vivants sous le microscope, pour être observés et dessinés à un faible grossissement.

Ceci permettra de voir facilement leur aspect général extérieur et, s'ils sont un peu transparents, ce qui est très fréquent, de saisir aussi, en grande partie, la disposition de leurs organes intérieurs. Les dessins d'ensemble, obtenus de cette façon, sont toujours très précieux pour le travail ultérieur, surtout si l'on fait des reconstructions graphiques et plastiques. On peut aussi, quoique moins bien, les photographier.

Mais, généralement, cela ne suffit pas; il faut pouvoir pousser l'analyse de détail beaucoup plus loin et, alors, il devient indispensable de recourir à des pièces fixées et à des préparations microscopiques, d'ensemble, ou coupées en séries régulières (v. fig. 98, p. 117), et présentant, d'une façon satisfaisante, les détails histologiques fins.

Dans ce dernier cas, l'application méthodique de fixateurs parfaits, — tels que : le bichlorure de mercure, les acides chromique, nitrique, picrique, osmique, séparés ou combinés diversément, et, surtout, de la solution de Kleinenberg, — devient de rigueur. Avec ce dernier réactif, seul ou combiné à une ou deux gouttes d'acide osmique, nous avons très souvent obtenu des résultats admirables : nous possédons des œufs humains, très jeunes, dans lesquels la fixation, par ce procédé, n'a amené aucune rétraction, ni aucune déformation appréciables, et qui, une fois relavés à l'alcool à 70° et photographiés, avec notre appareil spécial (fig. 63 et 131 à 137), nous ont donné des clichés superbes, ordinaires ou stéréoscopiques, de grandeur naturelle ou amplifiés.

Quand ils ont subi la fixation, les embryons, ou les larves, peuvent être passés : graduellement dans les alcools de plus en plus concentrés; dans l'alcool absolu; transportés ensuite à l'essence et montés; enfin, au baume du Canada; — entiers ou bien, après avoir été imprégnés à la celloïdine ou à la paraffine et coupés en série. Il y a avantage, dans les cas ordinaires, à colorer *in toto*, dans du carmin boracique à l'alcool (v. p. 48 et 76), les pièces tout de suite après l'action du réactif fixateur, avant d'en faire des préparations définitives. La coloration peut aussi s'exécuter, — quoique cela soit plus difficile à cause des décollements à craindre,

— seulement après que les coupes sériées sont collées sur le porte-objet.

Une fois ces opérations terminées, on passera à l'étude histologique et aux reconstructions graphique et plastique (voir plus loin, p. 308).

Il va sans dire que, quand on est en présence de pièces volumineuses, on peut recourir aux méthodes anatomiques macroscopiques ordinaires, telles que : la dissection, la macération, les *injections opaques,* à base de cire, etc., etc.

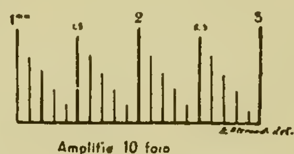


Fig. 128. Détails des graduations de l'échelle, fig. 127. Amplification : 10 fois (dessin de l'auteur). Chaque millimètre est divisé en dix divisions, disposées en deux groupes de 5 divisions, chacun.

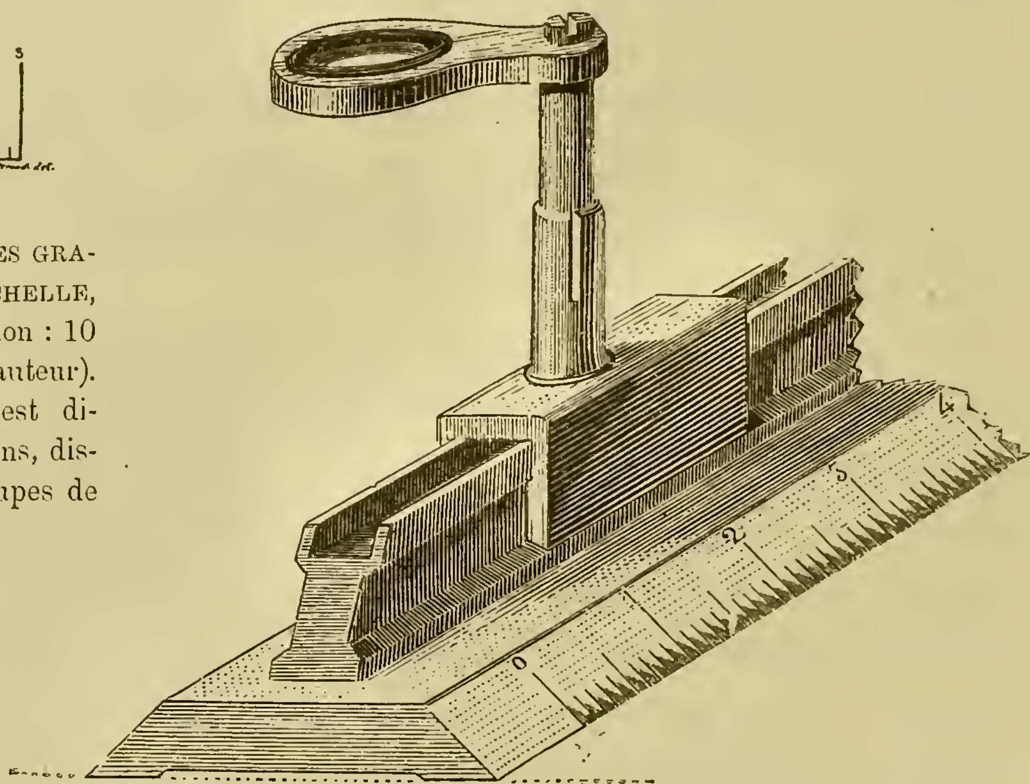


Fig. 127. Echelle de précision, graduée en dixièmes de millimètre, munie d'une loupe pour la lecture des graduations (de la Société pour la construction d'instruments de physique, à Genève).

Il est aussi utile d'employer parfois les injections microscopiques, vasculaires ou interstielles, avec des *masses transparentes,* à la gélatine (v. p. 88).

De même, le traitement, par le bleu de méthylène, ou par le chromate d'argent (Golgi, Cajal), donneront des résultats superbes et plus instructifs, dans l'étude des détails internes du système nerveux (v. p. 287 et 288).

VII. — Mensurations.

Il est souvent de la plus grande importance, surtout en vue de la reconstruction ultérieure, de faire des *mensurations* exactes des pièces fraîches ou déjà fixées.

Voici comment nous procédons :

Après avoir armé notre œil d'une bonne loupe d'horloger, nous portons, directement sur la pièce, les pointes d'un bon compas acéré ; puis, ensuite, toujours en nous aidant de la loupe, nous mesurons l'écartement des pointes, en posant celles-ci sur une de ces jolies échelles graduées de précision, si admirablement construites par la « Société pour la construction d'instruments de physique, » de Genève.

Etant donné le mode de graduation de l'échelle (v. fig. 127 et 128), nous pouvons arriver à apprécier assez facilement des vingtièmes de millimètre ; ce qui, d'ailleurs, est amplement suffisant pour ce genre de mesures.

Quant aux mensurations microscopiques proprement dites et faites sur des coupes, on les exécutera avec le concours du micromètre oculaire, ou de la chambre claire, selon les indications que nous avons données précédemment (v. p. 104). Ce dernier genre de mesures peut être parfois utilisé directement pour la reconstruction graphique.

VIII. — Pesées.

Il est intéressant d'avoir des indications exactes du poids des objets. On fera les pesées fines, avec une balance de précision du type employé par les chimistes. Nous faisons les nôtres avec un instrument, construit avec une grande habileté par MM. Scholl et Cie, à Genève. L'on s'exercera à peser méthodiquement, suivant les règles des pesées différentielles et qu'observent, journellement, tous ceux qui sont appelés à faire des pondérations de précision.

IX. — Méthode de reconstruction graphique et plastique.

Lorsque les embryons ont des aspects extérieurs, des formes et des rapports anatomiques intérieurs complexes, il devient absolument indispensable de recourir à la reconstruction ; sans cela, par la lecture et l'interprétation simples des coupes, on s'expose à faire de graves erreurs. La littérature embryologique présente de nombreux exemples de confusions, qui n'ont pas d'autre origine que des fautes commises dans l'interprétation des coupes, surtout si ces dernières ne sont pas rigoureusement en séries.

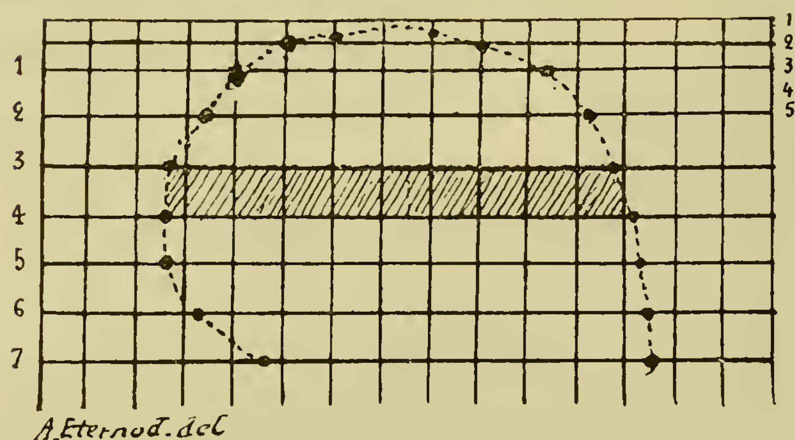


Fig. 129. Reconstruction graphique, sur papier quadrillé, à l'échelle de 2 millimètres, en sautant chaque fois une coupe (dessin de l'auteur).
La tranche, représentée avec une ombre, 3 et 4, correspond donc à deux coupes de l'original.

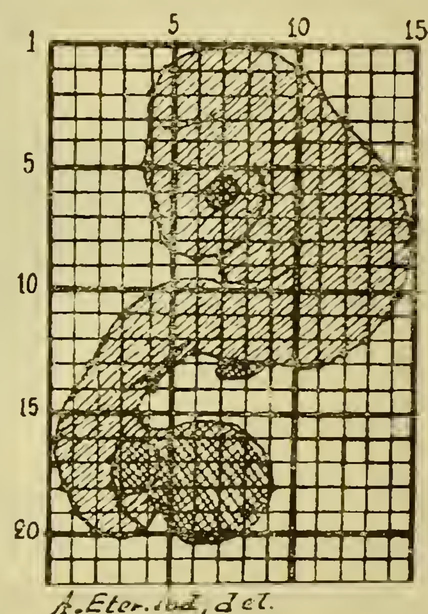


Fig. 130. Reconstruction graphique, en profil médian, d'un embryon de poulet, sur papier quadrillé au millimètre (dessin de l'auteur).

Seule, la reconstruction méthodique permet d'établir des dessins précis (méthode graphique) et de créer des modèles (méthode plastique), donnant une idée exacte, — dans un plan ou dans l'espace, — des formes anatomiques souvent très compliquées des embryons.

Rien n'est d'ailleurs plus intéressant, pour le chercheur qui pratique cette méthode, que de voir apparaître, avec une grande netteté, les unes après les autres, fatalement et comme par enchantement, les formes les plus variées, les aspects les

plus compliqués de l'anatomie embryonnaire. Sans compter que l'exercice même, que demande ce genre de travail, contribue à développer, d'une façon remarquable, le sens dit : plastique, de la forme ou stéréoscopique. On ne devient un vrai morphologiste, que lorsque, avec des dispositions pour ainsi dire innées, on développe, par l'exercice méthodique, ce mode spécial de représentation psychologique.

1° **Reconstruction graphique**. Elle peut être *sommaire* ou *circonstanciée;* mais elle repose toujours, en définitive, sur le même principe fondamental : opérer sur une série microtomée et irréprochable de coupes, ayant une épaisseur déterminée; amplifier, par la photographie ou au moyen de la chambre claire, dans un rapport, proportionnel à l'épaisseur (ou à l'écartement des coupes); et faire des reports, sur des minutes en papier quadrillé, dont les traits sont tracés à 1 ou 2 millimètres d'intervalle. On peut, suivant les cas, reporter les dessins des coupes, ou, simplement, les mensurations prises sur ces dessins, en ayant soin, toutefois, de toujours observer une orientation constante et dans le même sens.

Un exemple rendra ceci plus compréhensible :

Si j'ai des coupes de $^1/_{100}$ de millimètre d'épaisseur et que je veuille obtenir une image de l'objet, agrandie 100 fois : je prendrai du papier quadrillé au millimètre; je dessinerai mes coupes, en les amplifiant 100 fois; et je reporterai successivement leur contenu sur mon papier quadrillé, en faisant correspondre chaque coupe à un des traits de papier, puisque chaque intervalle d'un millimètre, équvaudra à l'épaisseur de ma coupe, amplifiée 100 fois. Ainsi, j'aurai une augmentation exacte de 100 fois, aussi bien dans le sens de l'épaisseur que dans celui de la longueur (v. fig. 129 et 130).

Si, m'inspirant des règles mathématiques de la projection, je prends comme point de départ des directions différentes, je pourrai obtenir des reconstructions reportées, tour à tour et à volonté : sur le plan frontal ; sur le plan médian ; sur des plans para-

médians; ou même, à la rigueur, si je le désire, quoique cela soit plus difficile, sur des plans obliques choisis *ad libitum;* de même, d'ailleurs, cela va sans dire, que sur des plans transversaux.

Lorsque la forme anatomique à reconstruire n'est pas trop compliquée, on peut sauter un nombre plus ou moins grand de coupes (5, 10 et plus) et placer en conséquence, les reports aux distances voulues sur le papier quadrillé.

Si l'on se borne à utiliser simplement certaines mensurations, prises à l'oculaire micrométrique quadrillé (ou obtenues au moyen

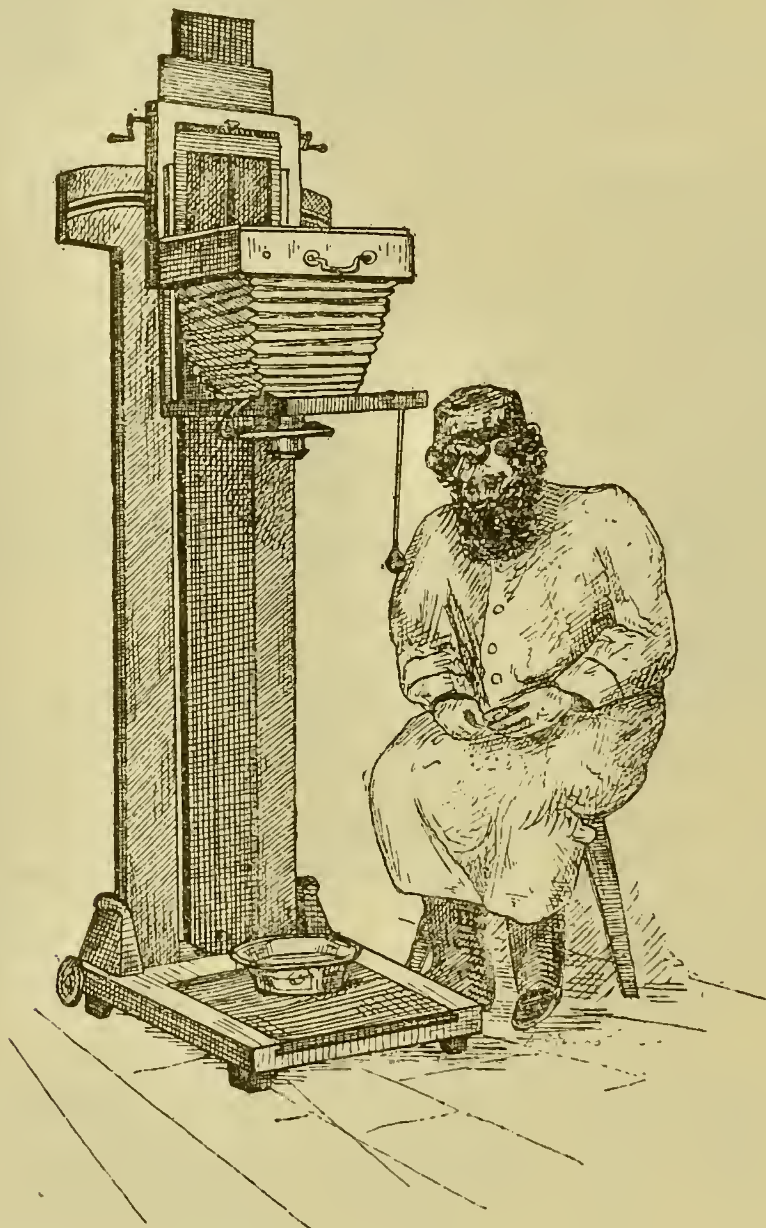


Fig. 131. Grand appareil photographique universel, de l'auteur, disposé pour la photographie verticale simple, dans un liquide (dessin de l'auteur).

de la chambre claire), on les reportera et on les pointera. au compas, sur le papier quadrillé *ad hoc;* ou bien, l'on appliquera la méthode préconisée par notre regretté prédécesseur, M. H. Fol,

méthode qui consiste à se servir, au lieu de compas, de deux plaques de verre gélatinées, sur lesquelles on a préalablement dessiné des traits, rigoureusement parallèles et diversement colo-

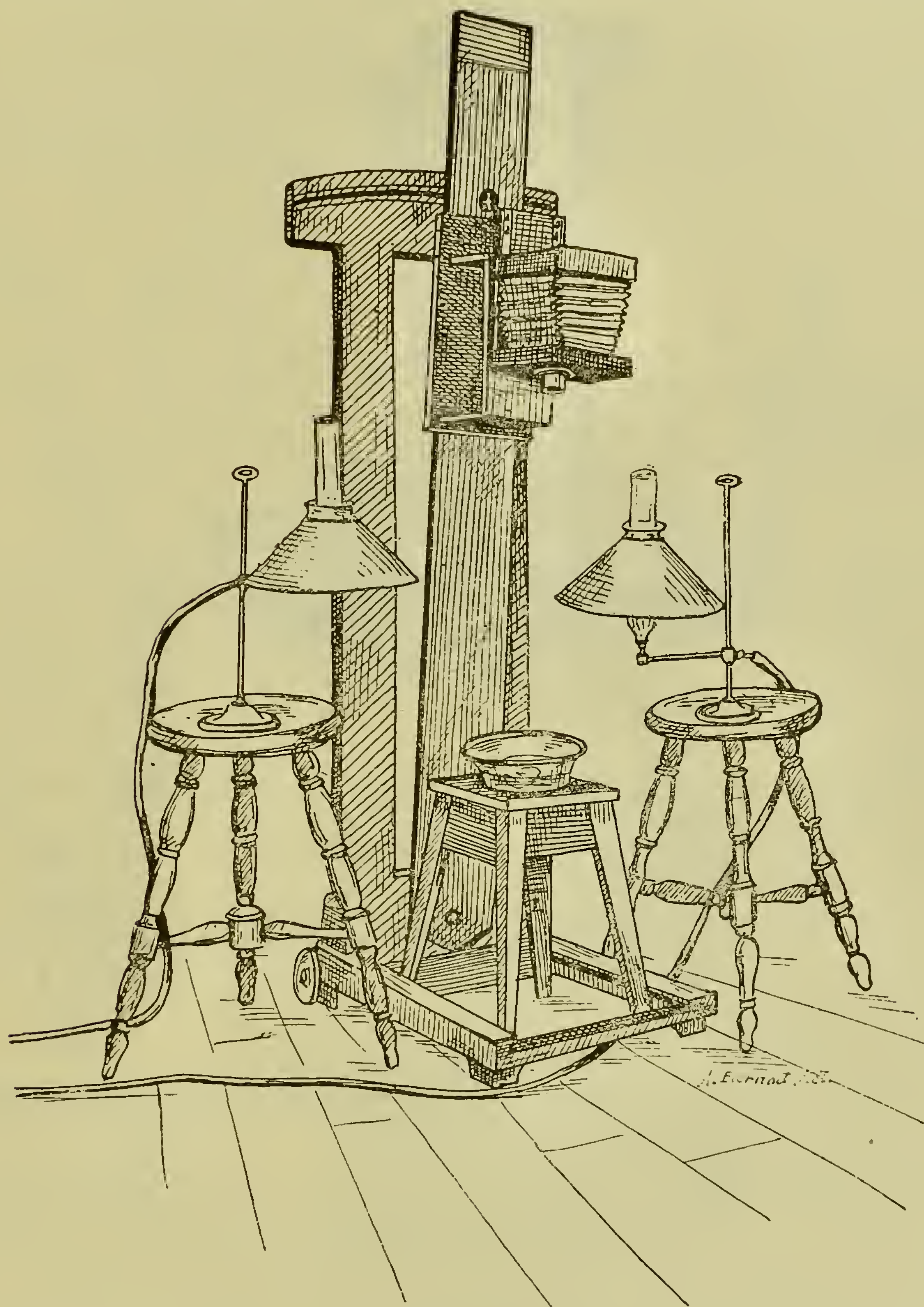


Fig. 132. GRAND APPAREIL PHOTOGRAPHIQUE UNIVERSEL, de l'auteur ; disposé pour la photographie verticale stéréoscopique, dans un liquide (dessin de l'auteur).

rés, pour faciliter leur lecture. (*Lehrb. der vergleich. mikr. Anat.*, 1884, p. 85.)

Une fois la série de pointages obtenue, il suffit de relier les

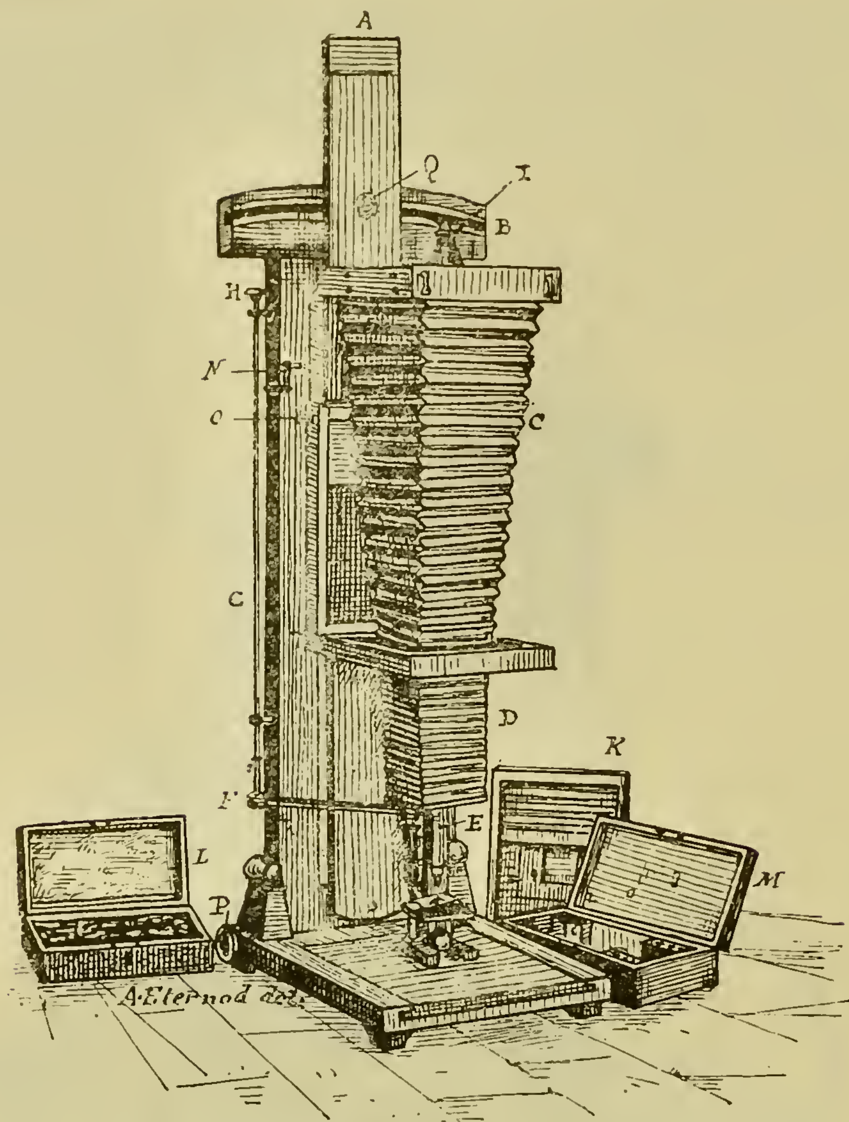


Fig. 133. GRAND APPAREIL PHOTOGRAPHIQUE UNIVERSEL, DE L'AUTEUR (d'après ses dessins).

Appareil disposé pour faire des photographies avec une lentille à long foyer.

Cet appareil peut être utilisé dans la station verticale, comme le représente la figure ci-dessus, ou bien aussi dans les stations horizontale et penchée.

A Planchette oscillante, servant de glissière à la chambre photographique et à ses accessoires.

B Coulisse pour guider l'oscillation de la planchette. Cette oscillation peut être utilisée pour faire des épreuves stéréoscopiques.

C Chambre photographique 24×30, à long soufflet.

D Soufflet intermédiaire de raccord.

E Microscope photographique à gros tube, de l'auteur. Voir fig. 136.

F Mécanisme à triples bielles accouplées, pour la mise au point du microscope (construit par M. E. Jaccard, sous-préparateur). Voir fig. 136 et 137.

G Tige du mécanisme ci-dessus.

H Bouton de la tige ci-dessus.

I Loupe pour la mise au point de l'image, sur une plaque, avec réserves spéciales, inventées par l'auteur.

K Châssis à deux faces, pouvant recevoir des plaques de toutes grandeurs, au-dessous de la dimension 24×30 et muni de nombreux perfectionnements.

L Etui, avec tous les nombreux accessoires de l'appareil.

M Etui, du microscope avec les oculaires et objectifs de rechange.

N Manivelles pour la mise en mouvement de la chambre photographique.

O Vis de serrage pour fixer la planchette de la chambre photographique.

P Poulie folle spéciale (inventée par M. E. Jaccard, sous-préparateur), permettant le transport et la manœuvre faciles de tout l'appareil.

Q Ecrou de serrage de la planche oscillante.

points, par des traits continus, pour voir les formes projetées apparaître (v. fig. 129 et 130).

Dans quelques cas simples, il est parfaitement suffisant de faire une reconstruction sommaire, en superposant, — sans autre, ou en recourant à des points de repaire spéciaux, — un certain nombre de dessins, exécutés sur du papier à décalquer, suffisamment translucide et de les observer directement par transparence.

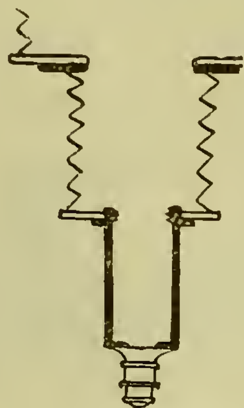


Fig. 134. Dispositif de l'appareil fig. 133, pour photographier sans oculaire (dessin de l'auteur).

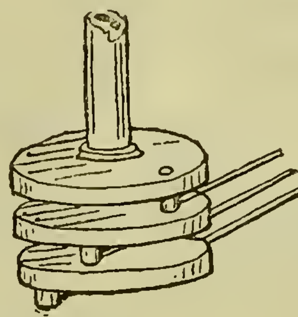
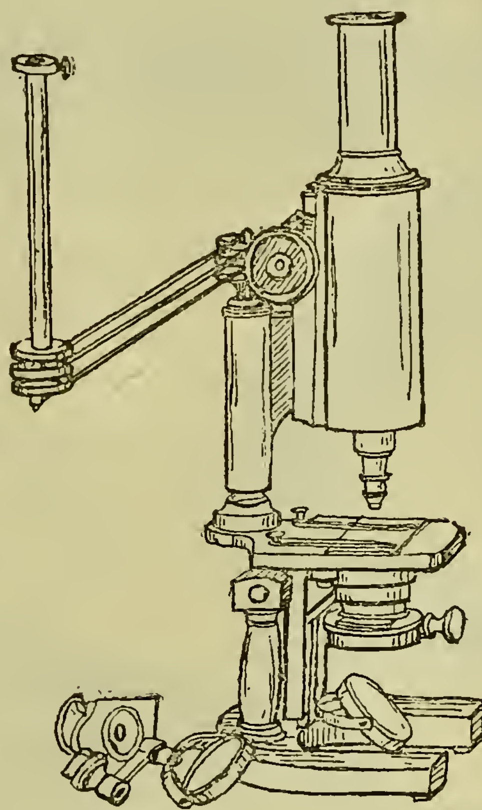


Fig. 137. Détails du mécanisme de renvoi de la vis micrométrique du microscope (voy. fig. 133 à 135), avec bielles accouplées (dessin de l'auteur).



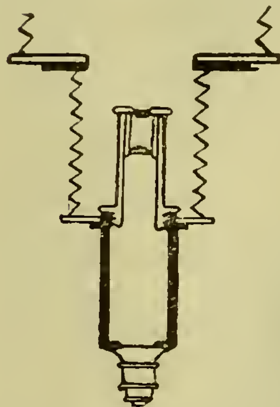


Fig. 135. Dispositif de l'appareil fig. 133, pour photographier avec oculaire (dessin de l'auteur).

Fig. 136. Microscope spécial de l'auteur pour le grand appareil photographique (voy. fig. 133), avec tube très large et mécanisme de renvoi spécial de la vis micrométrique, avec bielles accouplées, construites par E. Jaccard, aide-préparateur (dessin de l'auteur).

Sur tous les croquis obtenus par ces diverses méthodes, quelques ombres, une ou deux teintes plates au lavis, des traits diversément colorés, suffiront, ensuite, à rendre le dessin encore plus clair et plus compréhensible.

On s'aidera, d'ailleurs, chemin faisant, de croquis, d'ensemble

ou de détail, des dessins, des profils, et des photographies, simples ou stéréoscopiques, qu'on aura eu soin d'exécuter, avant de débiter la pièce en coupes sériées, lorsqu'elle était encore fraîche ou plongée dans les réactifs préparatoires.

Un esprit lucide et exercé arrive jusqu'à un certain point — et c'est une chose qu'il ne faut pas négliger de pratiquer chaque fois, lorsqu'il s'agit de rapports et de formes peu compliquées, — à se faire une raison satisfaisante du tout, par la simple lecture cursive des séries de coupes, sans devoir toujours nécessairement recourir à une reconstruction, qui est toujours longue et fatigante à mener à bonne fin. Mais de la prudence dans les conclusions!

2° Reconstruction plastique. Tous ceux qui se sont occupés d'une façon un peu approfondie de problèmes morphologiques, savent que la traduction graphique simple, sous forme de dessin dans un plan, est souvent impuissante à donner une idée vraiment exacte d'objets, fortement mouvementés dans l'espace.

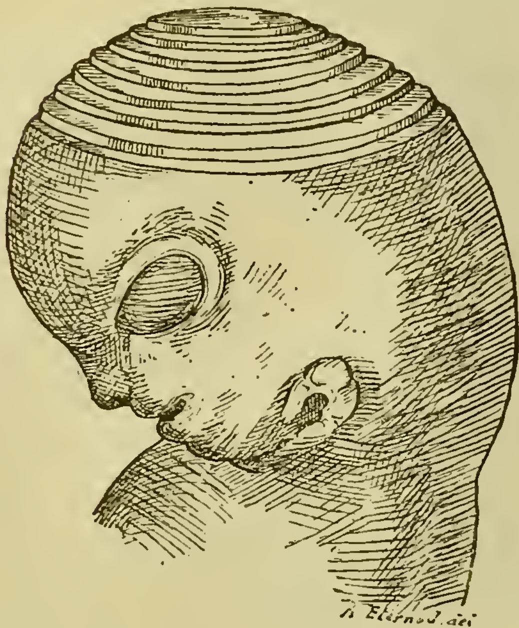


Fig. 138. Reconstruction plastique de la tête d'un embryon, par la méthode des plaques de cire superposées. Le sommet de la tête montre les plaques distinctes. Dans les autres parties, les escaliers laissés par ces plaques superposées ont été comblés et modelés (dessin de l'auteur).

Pour atteindre ce but, on peut parfois se borner à recourir au *modelage libre :* soit au moyen du travail direct des pouces, ou de fouloirs, de spatules et d'autres outils *ad hoc*, s'exerçant sur des matières plastiques, comme la terre grasse, la cire, etc.; soit encore au moyen de la sculpture de matières plus résistantes, telles que le bois, le plâtre, etc.

Mais, si la forme étudiée est trop compliquée, il n'y a pas d'autres ressources, que d'exécuter patiemment des *reconstructions plastiques,* de précision.

On arrive à ce résultat, en restituant une à une, et en amplifiant, en largeur et en épaisseur, à une échelle déterminée et sous

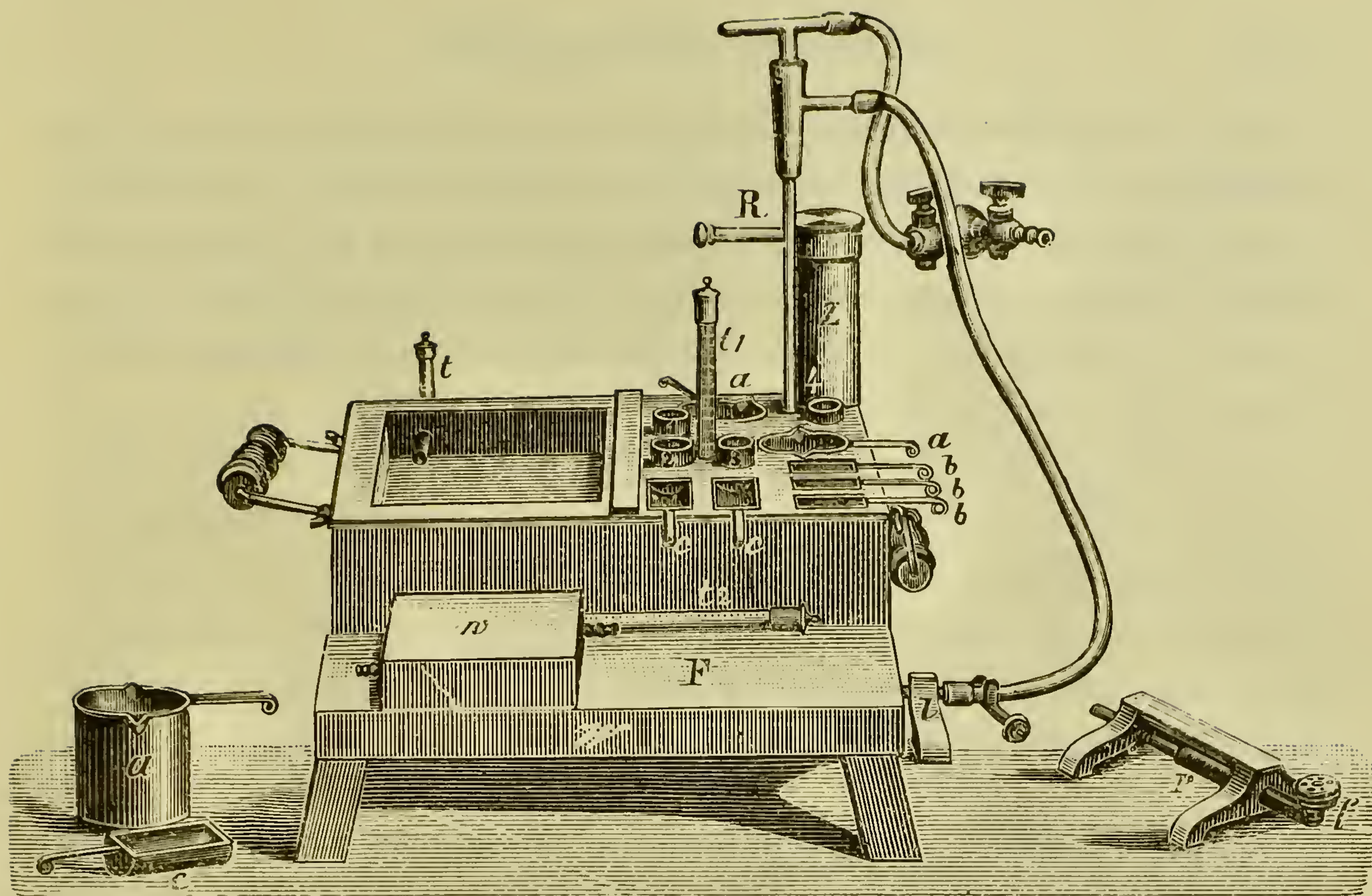


Fig. 139. Bain-marie du Dr Meyer (cliché de la maison R. Jung, à Heidelberg).

a, b, c	Récipients pour la paraffine, pure ou en solution.	*l*	Bec à gaz en place.
1, 2, 3, 4	Tubes en verre pour les mêmes usages.	*r*	Régulateur du bec à gaz.
F	Surface pour poser les porte-objets.	R	Régulateur de la flamme, à température constante.
f	Brûleur à gaz spécial.	*t, t*^{1}*, t*^{2}	Thermomètres.
		w	Surface pour couler les blocs.

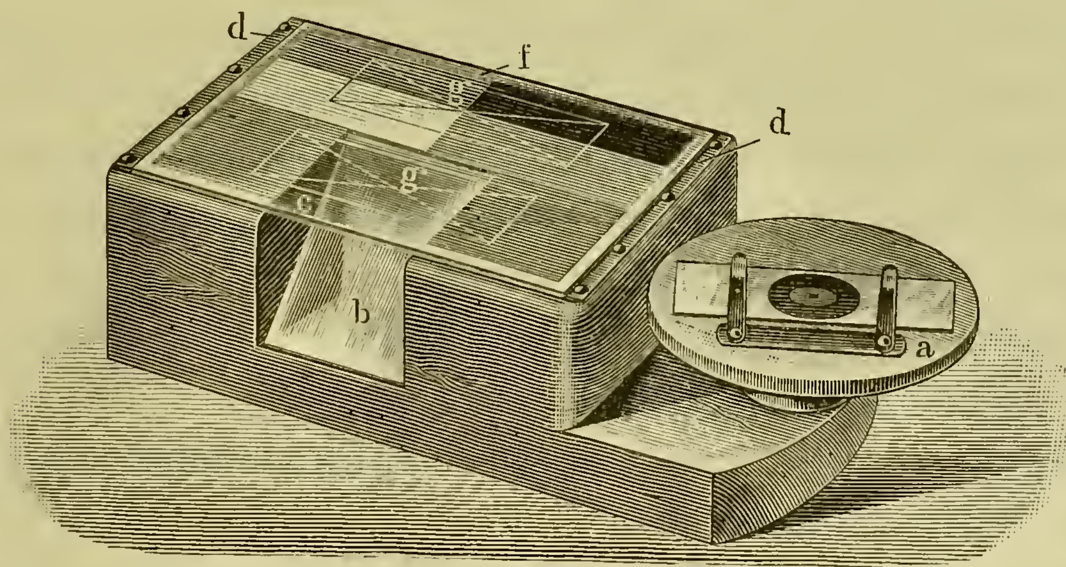


Fig. 140. Tournette microscopique à plusieurs fins, de l'auteur (d'après un de ses dessins).

a Plateau de la tournette avec une préparation microscopique encadrée, centrée et fixée avec les pinces (valets).
b Miroir incliné, à 45°, pour éclairer par dessous la préparation.
c Plaque en glace transparente, forte et biseautée.
d Listes en métal, fixées à vis pour retenir la glace biseautée en place.
g et g' Repères, gravés au diamant, pour centrer la préparation microscopique.

NOTA. Sous la glace se trouve un fond de teintes variées (rouge, vert, noire, blanche, jaune, etc.) pour servir de fond, lorsqu'on pratique des dissociations, des dilacérations, etc.

forme de modèles solides, chacune des coupes de la série. Cette méthode est indispensable, quand on veut obtenir un résultat parfaitement exact. Mais dans beaucoup de cas, et pour gagner du temps, on peut parfaitement sauter, à intervalles réguliers, un certain nombre de coupes, lorsqu'on peut se contenter d'un résultat plus approximatif.

Pour créer les objets ainsi amplifiés, diverses substances, telles que : le plâtre, le carton, la cire, etc., ont été essayées; après de nombreux tâtonnements, on est généralement tombé d'accord, pour donner la préférence à la cire et aux substances similaires, qui sont douées d'une grande plasticité et d'une grande malléabilité, tout en gardant une consistance suffisante (v. fig. 138).

Si, par exemple, je veux obtenir un modèle exact, amplifié 50 fois, je prendrai des plaques de cire 50 fois plus épaisses que les coupes en séries et armées, sur une de leurs faces, d'une feuille de papier; je dessinerai, sur le papier, à la chambre claire, mes coupes, en les amplifiant 50 fois; je découperai, ensuite, avec un instrument tranchant et effilé, la cire, en suivant exactement les contours des dessins; et je superposerai, les plaques ainsi découpées, en recourant, s'il le faut, à des repères.

De cette façon, on peut, non seulement obtenir une représentation, exacte et amplifiée, de la forme extérieure générale de l'objet, mais aussi modeler les détails anatomiques des organes et des cavités intérieures. C'est par cette méthode ingénieuse, que sont obtenus la plupart des beaux modèles en cire durcie, dont les exemplaires se sont répandus dans le monde entier, de MM. Ziegler, père et fils, à Fribourg en Brisgau.

Il est souvent utile, au lieu de dessiner directement à la chambre claire et sur les plaques de cire, de faire, sur des feuilles de papier à dessin ordinaire, des *minutes* et d'utiliser, pour la reconstruction, des décalques levés sur ces minutes, qu'on pourra conserver et employer plusieurs fois de suite à des reconstructions diverses.

Une fois l'ébauche générale obtenue, il est très facile de parfaire son modèle : en retravaillant les détails; en comblant les sortes d'escaliers que laissent par leurs variations de dimensions,

les coupes superposées; en colorant les surfaces avec des teintes différentes; enfin, si cela est nécessaire, en recoupant ultérieurement, par des sections diversément orientées, son modèle, pour créer des parties détachables, qui permettront une étude et une démonstration plus commodes.



INDEX ALPHABÉTIQUE

H

I et J

T

U

V

FIN DE L'INDEX ALPHABÉTIQUE

ERRATUM

Page	67,	fig.	70	— lisez : à double et *triple* pince.
»	85,	»	70	— consultez la *légende de la fig. 140.*
»	135,	»	105	— lisez : de Leitz, à *Wetzlar* au lieu de « à Jéna. »
»	106,	»	141	— ajoutez : (*dessin de l'auteur*).
»	154,	ligne	23	— lisez : fig. *68* au lieu de « 58. »
»	173,	»	9	— après les mots « moelle de sureau » ajoutez : *dans le sac lymphatique dorsal.*
»	193,	»	5	— lisez : *squelette,* au lieu de squel*l*ette.
»	205,	»	5	— lisez : fixation *sur* place au lieu de « *en* place. »
»	229,	»	14	— lisez : *ratatinement* au lieu de « *rétraction.* »
»	248,	»	29	— après le mot « susceptible, » ajoutez : d'*inflammation.*
»	259,	»	25	— après le mot « l'absence, » ajoutez : *fréquente.*
»	283,	»	20	— mettez une virgule entre les mots « interannulaire » et « de la gaine. »

